

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de PEDIATRÍA



**EMPLEO DE LOPINAVIR-RITONAVIR DURANTE
TIEMPO PROLONGADO EN NIÑOS INFECTADOS POR
EL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA
TIPO 1 (VIH-1)**

TESIS DOCTORAL

Beatriz Larrú Martínez

Madrid, 2007

Tesis Doctoral

EMPLEO DE LOPINAVIR-RITONAVIR DURANTE TIEMPO PROLONGADO EN NIÑOS INFECTADOS POR EL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA TIPO 1 (VIH-1)

Esta Memoria ha sido presentada para optar al grado de Doctor en Medicina por:

Beatriz Larrú Martínez

Directores de Tesis:

Dra. M^a Ángeles Muñoz-Fernández

Doctora en Ciencias Biológicas y Doctora en Medicina y Cirugía

Adjunta en el Laboratorio de Inmuno-Biología Molecular del Hospital General Universitario “Gregorio Marañón” de Madrid

Dra. M^a Isabel de José Gómez

Doctora en Medicina y Cirugía

Adjunta en el Servicio de Enfermedades Infecciosas Pediátricas en el Hospital Universitario “La Paz” de Madrid

V^oB^o Directores

M^a ÁNGELES MUÑOZ-FERNÁNDEZ, adjunta del Laboratorio de Inmuno-Biología Molecular del Hospital General Universitario “Gregorio Marañón” y Profesora Honoraria del Departamento de Biología Molecular de la Universidad Autónoma de Madrid, y **M^a ISABEL DE JOSÉ GÓMEZ**, adjunta en el Servicio de Enfermedades Infecciosas Pediátricas en el Hospital Universitario “La Paz” y Profesora del Departamento de Pediatría de la Universidad Autónoma de Madrid, directoras de la Tesis presentada por Doña BEATRIZ LARRÚ MARTÍNEZ.

INFORMAN:

Que Doña BEATRIZ LARRÚ MARTÍNEZ ha realizado bajo su dirección y tutela el trabajo que presenta para optar al grado de Doctor en Medicina titulado “EMPLEO DE LOPINAVIR-RITONAVIR DURANTE TIEMPO PROLONGADO EN NIÑOS INFECTADOS POR EL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA TIPO 1 (VIH-1)”, cumpliendo todos los requisitos necesarios para su presentación como Tesis Doctoral.

En el aspecto científico, dicho trabajo supone un importante avance en el conocimiento de la infección por VIH en niños. Así, se ha observado que la terapia antirretroviral de gran actividad (TARGA) durante tiempos prolongados con Inhibidores de la Proteasa como Lopinavir/Ritonavir, logra una recuperación de los linfocitos TCD4+ y una supresión de la carga viral plasmática (CV) (marcadores de progresión de la infección por VIH-1) mantenida. Además, se estudian los factores basales que se asocian a un mejor o peor control de la CV en los niños infectados verticalmente por el VIH. De esta forma, se ha encontrado que valores elevados de CV o tiempos prolongados de tratamiento antirretroviral, están relacionados con un peor control de la CV. Así mismo, se ha identificado que el recuento de células TCD4+ en el momento basal, es el factor más relevante para lograr mantener una supresión virológica adecuada y una recuperación inmune sostenida. La imposibilidad de erradicar el virus en la actualidad, obliga a mantener los TARGA en ocasiones de manera indefinida por lo que es preciso desarrollar estudios que como esta Memoria evalúen la eficacia y tolerancia de los ARV durante largos períodos.

El mal control de la CV se asocia con la aparición de resistencias a los fármacos antirretrovirales en uso, limitando el arsenal de fármacos disponibles. Los tests de resistencia genotípicos, aunque tienen limitaciones, contribuyen a diseñar pautas TARGA más óptimas que a su vez se asocian a una mejor respuesta virológica en los pacientes. La interpretación de estos test es a menudo compleja y se han de validar en la práctica clínica diferentes algoritmos que permitan facilitar su uso.

Este trabajo ha generado varios artículos en revistas nacionales e internacionales y varias comunicaciones a congresos. El trabajo alcanza los objetivos planteados, aporta datos originales y plantea nuevas preguntas en el estudio del tratamiento de la infección por el VIH. Por todo ello, se considera que el trabajo presentado es merecedor de ser aceptado como trabajo de Tesis Doctoral en el Departamento de Pediatría de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Madrid.

En Madrid, 23 de Abril de 2007.

M^a Ángeles Muñoz Fernández
M^a Isabel de José Gómez

El trabajo presentado en esta Tesis Doctoral ha sido realizado en el laboratorio de Inmuno-Biología Molecular del Hospital General Universitario “Gregorio Marañón”, bajo la dirección de las Dras. M^a Ángeles Muñoz Fernández y M^a Isabel de José Gómez. Beatriz Larrú Martínez está financiada por un contrato del Fondo de Investigaciones Sanitarias (FIS CM0600054).

A mi madre, por enseñarme a creer en la bondad de las personas

A mis hermanos, por quererme

A Edu, porque cualquier lugar en el mundo es un buen sitio para vivir si él está

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar me gustaría dar las gracias a las Doctoras Muñoz-Fernández y De José, es decir a M^a Ángeles y Maribel, por confiar en mí, no sólo en la elaboración de esta Tesis, sino para elegir mi propio camino. Gracias M^a Ángeles por abrirme las puertas de tu Laboratorio y estar siempre disponible. Gracias por preocuparte tanto por mí y ayudarme a perseguir mis sueños. Gracias Maribel, por enseñarme el cuidado y tesón que los niños con VIH merecen. Fue de ti de quien primero aprendí lo que esta enfermedad supone para los que la padecen. Gracias por contagiarme tus ganas de saber y tu ilusión por ser una mejor médico y persona. Muchas gracias a las dos por tratarme siempre con tanto cariño.

Especialmente me gustaría también dar las gracias a Salva, sin su apoyo y paciencia esta Memoria no habría podido realizarse. Gracias por creer en mí y ayudarme siempre. Gracias por enseñarme tanto y ser mi amigo.

Gracias a José María por conseguir siempre que la estadística sea divertida. Sin tus ideas y paciencia no habría podido acabar esta Tesis.

Gracias a todos los que día a día construyen el Laboratorio de Inmunobiología Molecular del Hospital Gregorio Marañón. Gracias por vuestro cariño y amistad.

Gracias a todos los pediatras que durante muchos años han tratado a los niños VIH. Gracias a José Tomas, Jesús, Lola, Claudia, Pepa, Pere, Manuel, Juan Antonio y Marisa. De todos vosotros he aprendido a ser mejor médico. Sin vuestra ayuda esta Memoria no tendría valor. Gracias por abrirme las puertas de vuestras consultas, por responder a todas mis dudas y estar siempre disponibles.

Gracias a Irene, por ser mi amiga. Gracias a Conchi, por su bondad. Gracias a Jesús, por su sabiduría y amistad. Gracias a Marta, por su ternura. Gracias a Laura y Maribel, por su escucha y simpatía. Gracias a Quique, por su alegría. Gracias a Florita, por su ejemplo. Gracias a todos mis amigos que siempre han estado cerca.

Gracias a todos los médicos de quienes he aprendido tanto: gracias a Santi y Rogelio por ayudarme a descubrir otros horizontes, gracias a Luís por cuidarme como una hija, gracias a Pablo, Maribel, Celia, Lola, Lina, Eva, Carmen, Conchita, Loreto, Pepe y Rafa, por enseñarme tanto durante la residencia. Gracias a Xavier, Eli, Meche, Onix y Javier, por creer en mí.

Gracias a todos aquellos que me han enseñado a soñar que otro mundo es posible. Gracias a todos los niños que he conocido que conviven con la infección VIH en el mundo. Vuestras ganas de vivir son el mejor estímulo para investigar.

SUMMARY

The introduction of highly active antiretroviral therapy (HAART) has led to a decrease in mortality rates in HIV-infection, and has proved to be effective in suppressing VL and increasing CD4⁺ T-cells counts in children. This has been particularly true, since the introduction of the Protease Inhibitors, which have proved to be very effective in naive and pretreated adults and children. Increasingly, these children are surviving through adolescence and into adult life. However, children receiving HAART used to have higher plasma viral loads (VL), and lower virologic response rates than adults. Since virological suppression is associated with long-term success of HAART, this finding may have major implications for the future health of these children.

The immune recovery of children is different from the one described in adults. Principally due to the role of the thymus in the first years of life and the presence of the virus while the development of immune system. Several studies in HIV-children have shown sustained CD4⁺ increases, even when virological failure has happened after HAART, but these studies were of limited duration and the long-term immunological and virological evolution after prolonged HAART are not completely understood. Moreover, the threshold of CD4⁺ to begin the antiretroviral treatment is still unsettled and there is a need to decide the optimal time to initiate HAART. In order to address those issues, we have carried out a retrospective study to define the long-term impact of HAART in %CD4⁺ and VL in a cohort of HIV-infected children who began a HAART with LPV/r and were followed up during a mean time more than 4 years.

We described how the population of children studied achieved a significant and sustained immune recovery during the follow up. More than half of the population maintained an adequate suppression of VL during the follow-up. The CD4⁺ cell count at baseline was the most important predictive factor of virological response. Lengths of PI treatment or baseline VL were also important during the follow-up. LPV/r was well tolerated during the study and few patients had side effects while HAART with LPV/r.

We also evaluated how the presence of mutations at viral protease influenced the virological response observed among HIV-1 infected children. Moreover, we described how the pattern of mutation in the protease gene changed during treatment with LPV/r in the absence of a completed viral suppression.

Our results suggest that HAART with LPV/r is shown to be effective at the population level, decreasing VL and increasing CD4⁺ T cells. This benefit is observed not only during the first months of treatment, as other authors have shown, but also during long term periods.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. EL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA.....	2
1.1.1. CICLO BIOLÓGICO DEL VIH.....	3
1.1.2. DINÁMICA VIRAL.....	5
1.1.3. CELULAS DIANA DEL VIH.....	6
1.2. VÍAS DE TRANSMISIÓN DEL VIH:.....	6
1.3. HISTORIA NATURAL DE LA INFECCIÓN VIH EN NIÑOS.....	7
1.3.1. HISTORIA DE LA INFECCIÓN VIH CON TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL EN NIÑOS.....	9
1.4. EPIDEMIOLOGÍA DE LA INFECCIÓN VIH EN NIÑOS.....	10
1.4.1. EPIDEMIOLOGÍA DE LA INFECCIÓN POR EL VIH EN EL MUNDO.....	10
1.4.2. EPIDEMIOLOGÍA DE LA INFECCION POR EL VIH EN ESPAÑA.....	10
1.5. DIAGNÓSTICO DE LA INFECCIÓN VIH EN EL NIÑO.....	11
1.6. EFECTOS INMUNOLÓGICOS DE LA INFECCIÓN:.....	11
1.6.1. CÉLULAS T CD4 ⁺	12
1.6.2. CELULAS T CD8 ⁺	13
1.7. CARACTERÍSTICAS INMUNOVIROLÓGICAS DE LA INFECCIÓN VIH EN LOS NIÑOS.....	13
1.8. TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL EN LA INFANCIA.....	14
1.8.1. PECULIARIDADES DE LA TERAPIA ANTIRRETROVIRAL EN NIÑOS.....	14
1.8.2. OBJETIVO DE LA TERAPIA ANTIRRETROVIRAL.....	14
1.8.3. CICLO VIRAL Y AGENTES ANIVIRALES.....	15
1.8.4. RECOMENDACIONES TERAPÉUTICAS ACTUALES.....	16
1.8.4.1. CRITERIOS DE INICIO DE TAR.....	16
1.8.4.2. COMBINACIONES DE FÁRMACOS EN TERAPIA DE INICIO.....	17
1.8.4.3. TERAPIA DE RESCATE.....	19
1.8.5. TOXICIDAD DEL TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL EN LOS NIÑOS.....	20
1.9. RESISENCIAS AL TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL.....	21
1.9.1. MECANISMOS DE RESISTENCIA A FÁRMACOS ANTIRRETROVIRALES.....	21
1.9.1.1. RESISTENCIA A LOS ANÁLOGOS DE NUCLEÓSIDOS Y ANÁLOGOS DE NUCLEÓTIDO INHIBIDORES DE LA TRANSCRIPTASA INVERSA.....	21
1.9.1.2. RESISTENCIA A LOS NO ANÁLOGOS DE NUCLEÓSIDOS INHIBIDORES DE LA TRANSCRIPTASA INVERSA.....	23
1.9.1.3. RESISTENCIA A LOS INHIBIDORES DE PROTEASA.....	23
1.9.1.4. PRUEBAS PARA LA DETECCIÓN DE RESISTENCIAS.....	25
1.9.1.5. INTERPRETACIÓN DEL GENOTIPO.....	26

1.10.	EMPLEO DE LOPINAVIR/R COMO COMPONENTE DEL TAR EN LOS NIÑOS	27
1.10.1.	RESISTENCIA A LOPINAVIR/R.....	27
2.	OBJETIVOS.....	30
3.	SUJETOS DE ESTUDIO Y MÉTODOS	32
3.1.	POBLACIÓN DE ESTUDIO.....	33
3.1.1.	ESTUDIOS CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICOS	33
3.1.2.	ESTUDIO DE RESISTENCIAS A ANTIRRETROVIRALES	34
3.2.	TÉCNICAS DE LABORATORIO.....	35
3.2.1.	PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS.....	35
3.2.1.1.	SANGRE PERIFÉRICA.....	35
3.2.1.2.	EXTRACCIÓN Y PROCESAMIENTO DEL SUERO.	35
3.2.2.	DETECCIÓN DE ANTICUERPOS ANTI-VIH.....	35
3.2.2.1.	EXTRACCIÓN Y PROCESAMIENTO DEL PLASMA Y DE LAS CÉLULAS MONONUCLEARES DE SANGRE PERIFÉRICA.....	35
3.2.3.	CUANTIFICACIÓN DE RNA VIRAL POR TRANSCRIPCIÓN INVERSA Y REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA.	35
3.2.4.	ANÁLISIS DEL GENOTIPO DE LOS AISLADOS DEL VIH.	35
3.2.5.	INTERPRETACIÓN DEL GENOTIPO DE LOS AISLADOS DEL VIH.	36
3.2.6.	CITOMETRÍA DE FLUJO.	36
3.2.6.1.	CUANTIFICACIÓN DE CÉLULAS CD4 ⁺ Y CD8 ⁺ EN SANGRE TOTAL.	36
3.2.6.2.	CUANTIFICACIÓN DE SUBPOBLACIONES DE CÉLULAS T CD4 ⁺ Y T CD8 ⁺	36
3.3.	TÉCNICAS ESTADÍSTICAS.....	37
3.3.1.	PROCESAMIENTO DE LOS DATOS.	37
3.3.2.	TABLAS DE CONTINGENCIA.	37
3.3.3.	ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA.	37
3.3.4.	PRUEBAS PARAMÉTRICAS.....	38
3.3.4.1.	COEFICIENTE DE CORRELACIÓN LINEAL DE PEARSON (R).....	38
3.3.4.2.	ANÁLISIS DE LA VARIANZA.....	38
3.3.4.3.	REGRESIÓN LOGÍSTICA.....	38
3.3.5.	PRUEBAS NO PARAMÉTRICAS.....	38
3.3.5.1.	“H” DE KRUSKAL-WALLIS.....	38
3.3.5.2.	“U” DE MANN-WHITNEY.....	39
3.3.5.3.	ANÁLISIS DE CORRELACIÓN DE SPEARMAN	39

4. RESULTADOS	40
4.1. DESCRIPCIÓN DEL CURSO CLÍNICO DE LA INFECCIÓN EN LA PRÁCTICA CLÍNICA HABITUAL EN UNA COHORTE DE NIÑOS INFECTADOS POR EL VIH-1 CON TARGA QUE CONTENGA LPV/R DURANTE AL MENOS 12 MESES	41
4.2. COMPARACIÓN DE LA DIFERENTE EVOLUCIÓN DE LA INFECCIÓN VIH EN NIÑOS CON TARGA QUE CONTIENE LPV/R SEGÚN SUS CARACTERÍSTICAS BÁSALES	54
4.2.1. ANÁLISIS DE LA EVOLUCIÓN DE LOS PACIENTES SEGÚN LA CIFRA DE CELULAS T CD4+ EN EL MOMENTO BASAL	54
4.2.2. ANÁLISIS DE LA EVOLUCIÓN VIROLÓGICA DE LOS PACIENTES SEGÚN LA ADHERENCIA AL TARGA	58
4.2.3. ANÁLISIS DE LA EVOLUCIÓN DE LOS PACIENTES CON COINFECCIÓN POR EL VHC	59
4.2.4. ANÁLISIS DE LA EVOLUCIÓN DE LOS PACIENTES SEGÚN LA DOSIS RECIBIDA DE LPV/R	63
4.2.5. ANÁLISIS DE LA EVOLUCIÓN DE LOS PACIENTES SEGÚN LA LINEA TARGA EMPLEADA	67
4.2.5.1. EVOLUCION SEGÚN LA PRESENCIA DE FÁRMACOS NUEVOS EN LA COMBINACIÓN	67
4.2.5.2. EVOLUCION SEGÚN EL TIPO DE TARGA	69
4.3. ANÁLISIS DE LOS FACTORES BASALES PRONÓSTICOS DE RECUPERACIÓN INMUNOLÓGICA Y SUPRESIÓN DE LA CARGA VIRAL, EN UNA COHORTE DE NIÑOS INFECTADOS POR EL VIH-1 CON TARGA DE RESCATE QUE INCLUYE LPV/R	76
4.3.1. FACTORES BASALES PRONÓSTICOS PARA MANTENER CV INDETECTABLE DURANTE 6, 12, 18, 24, 36 Y 48 MESES	78
4.3.2. FACTORES BASALES PRONÓSTICOS PARA MANTENER RECuentOS DE CÉLULAS T CD4+ $\geq 25\%$ DURANTE 6, 12, 18, 24, 36 Y 48 MESES	78
4.3.3. RESULTADOS A LARGO PLAZO DEL TRATAMIENTO CON LPV/R SEGÚN EL RECuento DE CÉLULAS T CD4+ Y CARGA VIRAL BASAL	79
4.4. CONSIDERANDO LA CARGA VIRAL COMO PARÁMETRO DE RESPUESTA, COMPARACION DE LAS CARACTERÍSTICAS BASALES, A LOS 12 Y A LOS 42 MESES EN UNA COHORTE DE NIÑOS INFECTADOS POR EL VIH-1 CON TARGA DE RESCATE QUE INCLUYE LPV/R	83

4.5.	ANÁLISIS DE LAS MUTACIONES EN EL GEN DE LA RETROTRANSCRIPTASA Y POTEASA DEL VIH-1 EN UNA COHORTE DE NIÑOS INFECTADOS POR EL VIH-1 CON UNA PAUTA TARGA DE RESCATE QUE INCLUYE LPV/R.....	89
4.5.1.	DESCRIPCIÓN DE LOS GENOTIPOS DE LA RETROTRANSCRIPTASA Y POTEASA DEL VIH-1 EN EL MOMENTO BASAL	89
4.5.2.	UTILIDAD DE LA INTERPRETACIÓN DEL GENOTIPO BASAL PARA PREDECIR LA RESPUESTA VIROLÓGICA EN UNA COHORTE DE NIÑOS INFECTADOS POR EL VIH-1 CON UN RÉGIMEN TARGA DE RESCATE QUE CONTIENE LPV/R.	93
4.5.2.1.	INTERPRETACIÓN DEL GENOTIPO BASAL SEGÚN EL PROGRAMA <i>HIVDB: GENOTYPIC RESISTANCE INTERPRETATION ALGORITHM</i> DE LA UNIVERSIDAD DE STANFORD	93
4.5.2.2.	INTERPRETACIÓN DEL GENOTIPO BASAL SEGÚN LAS GUÍAS DE LA <i>IAS-USA PANEL</i>	94
4.5.2.3.	INTERPRETACIÓN DEL GENOTIPO BASAL SEGÚN EL SCORE DE MUTACIONES ASOCIADAS A LPV/R (LMS).....	95
4.5.3.	VARIACIÓN DE LAS MUTACIONES DE RESISTENCIA EN EL GEN DE LA PROTEASA HALLADAS DURANTE EL SEGUIMIENTO CON UNA PAUTA TARGA DE RESCATE QUE CONTIENE LPV/R.	96
5.	DISCUSIÓN	100
6.	CONCLUSIONES	126
7.	BIBLIOGRAFÍA	129
8.	ARTÍCULOS PUBLICADOS	150
8.1.	LISTA DE ARTÍCULOS OBTENIDOS COMO RESULTADO DE LA REALIZACIÓN DE ESTA MEMORIA.	151

ABREVIATURAS

3TC	Lamivudina
Aa	Aminoácido
ABC	Abacavir
ADN	Ácido desoxirribonucleico
APV	Amprenavir
ARN	Ácido ribonucleico
ARV	Fármacos antirretrovirales
ATV	Atazanavir
AZT/ZDV	Zidovudina
CCR	Receptor de CC quimiocinas
CDC	Center for Disease Control and Prevention
CMSP	Células mononucleares de sangre periférica
CoI-HDL	Colesterol unido a lipoproteína de alta densidad
CoI-LDL	Colesterol unido a lipoproteína de baja densidad
CV	Carga viral plasmática
CXCR	Receptor de CXC quimiocinas
d4T	Estavudina
ddI	Didanosina
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DRV	Darunavir
DT	Desviación típica
E1	Estadio inmunológico 1 de la CDCP (>500 células T CD4 ⁺ /mm ³)
E2	Estadio inmunológico 2 de la CDCP (250-500 células T CD4 ⁺ /mm ³)
E3	Estadio inmunológico 3 de la CDCP (<250 células T CD4 ⁺ /mm ³)
EFV	Efavirenz
Estadio A	Síntomas leves según CDCP
Estadio B	Síntomas moderados según CDCP
Estadio C	Síntomas severos según CDCP
Estadio N	Asintomático según CDCP
FA	Fosfatasa alcalina
FCS	Suero fetal de ternera
FDA	Federal Drug Administration
FPV	Fosamprenavir
FTC	Emtricitabina
GGT	Gamma-glutamil transpeptidasa
GOT	Transaminasa glutámico oxalacética
gp	Glicoproteína
GPT	Transaminasa glutámico pirúvica
HLA	Antígeno mayor de histocompatibilidad
IAS-USA	International AIDS Society-USA
IC95%	Intervalo de confianza del 95%

IgG	Inmunoglobulina tipo G
IL	Interleucina
IMC	Índice de masa corporal
IO	Infecciones oportunistas
IP	Inhibidor de proteasa
LDH	Lactato deshidrogenasa
LMS	Score de mutaciones de lopinavir
Log₁₀	Logaritmo en base 10
LPV/r	Lopinavir/ritonavir
LTR	Secuencias repetidas largas
MFI	Intensidad relativa de fluorescencia
NFV	Nelfinavir
NNRTI	Inhibidor de la transcriptasa inversa no análogos de nucleósido
NRTI	Inhibidor de la transcriptasa inversa análogo de nucleósido
NSI/R5	No Inductor de sincitios
NVP	Nevirapina
OR	Odds ratio
<i>p</i>	Nivel de significación estadística
pb	Pares de bases
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
PRMAS	Mutaciones asociadas a la proteasa
RR	Riesgo relativo
RT	Enzima retrotranscriptasa
SI/X4	Inductor de sincitios
SIDA	Síndrome de la Inmunodeficiencia Adquirida
SNC	Sistema Nervioso Central
SQV	Saquinavir
T-20	Enfuvirtida
TAM	Mutaciones de análogos de timidina
TAR	Tratamiento antirretroviral
TARGA	Tratamiento antirretroviral de gran actividad
TDF	Tenofovir
TPV	Tipranavir
UCI	Unidad de Cuidados Intensivos
UI	Unidades internacionales
VHB	Virus hepatitis B
VHC	Virus hepatitis C
VIH	Virus de la Inmunodeficiencia Humana

1. INTRODUCCIÓN

El Síndrome de la Inmunodeficiencia Humana (SIDA) fue descrito por primera vez en 1981. Dos años más tarde, se identificó al Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH) como el agente causal¹. Desde entonces, la infección se ha expandido convirtiéndose en la mayor epidemia del siglo XX². No obstante, el desarrollo de fármacos antirretrovirales (ARV) ha logrado disminuir la morbi-mortalidad de esta infección, transformándola en una enfermedad crónica, en aquellos países con acceso a la medicación³⁻⁵.

1.1. EL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA

El virus de la inmunodeficiencia humana es un Lentivirus de la familia *Retroviridae*. En el hombre, se han aislado dos retrovirus que producen inmunodeficiencia, el VIH-1 y VIH-2, siendo el **VIH-1** el más extendido y la causa del mayor número de afectados de SIDA^{6,7}. Dentro del VIH-1 se diferencian 3 grupos; M (*main*, >98%), O (*outlier*, <1%) y N (*non-M, non-O*, < 1%) y el grupo M ha sido dividido en 10 subtipos (A, 23%; B, 8%; C, 56%; D, 5%; E, 5%; F-K, 3%) y al menos 29 formas recombinantes circulantes⁸⁻¹⁰. En esta Memoria siempre que se haga referencia al VIH se englobará exclusivamente al VIH-1.

La partícula viral del VIH es de aproximadamente 80-100 nm de diámetro (Figura 1), se compone de una envoltura lipídica y una nucleocápsida de forma cónica, en cuyo interior se encuentra el material genético y las enzimas necesarias para el ciclo viral¹¹. La envuelta está formada por una bicapa fosfolipídica procedente de la membrana plasmática de la célula infectada. Asociada a la bicapa hay dos glicoproteínas virales: **gp120**, proteína trimérica que sobresale hacia el exterior y permanece unida no covalentemente a la proteína **gp41** que se encuentra anclada a la bicapa lipídica por una región transmembrana¹². En el interior de la envuelta se alinea la proteína de la matriz **p17**.

La cápside esta formada por la proteína **p24**. En su interior se aloja el genoma viral, dos copias idénticas de ARN que están recubiertas por la proteína **p9**, una molécula de ARN transferente que actúa como cebador en la iniciación de las síntesis del ADN viral, y otras enzimas necesarias para su replicación como la **transcriptasa inversa**, la **integrasa**, la **proteasa** y la proteína **p6**¹³.

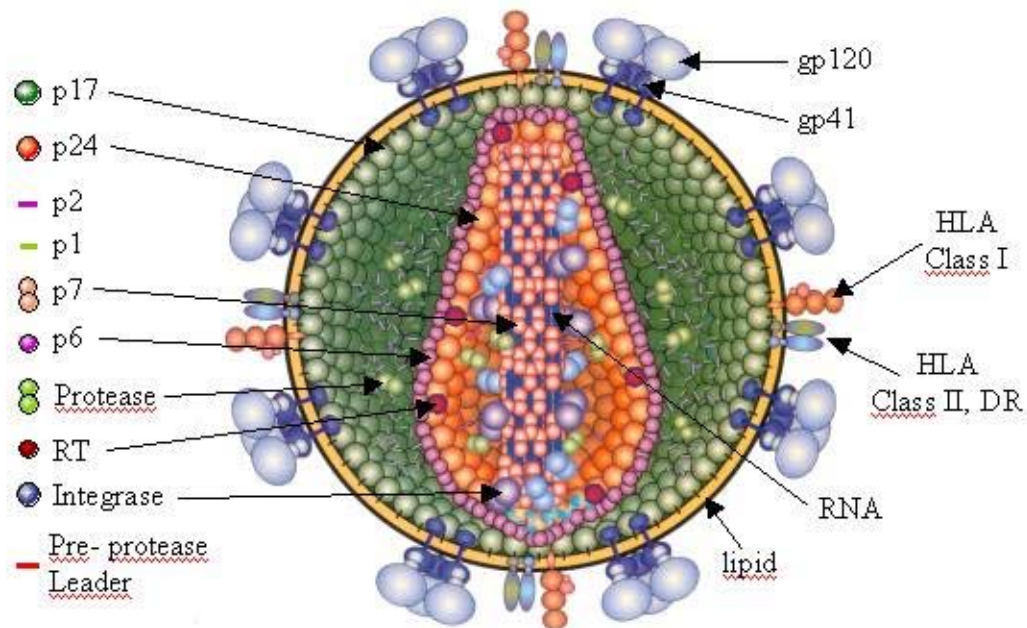
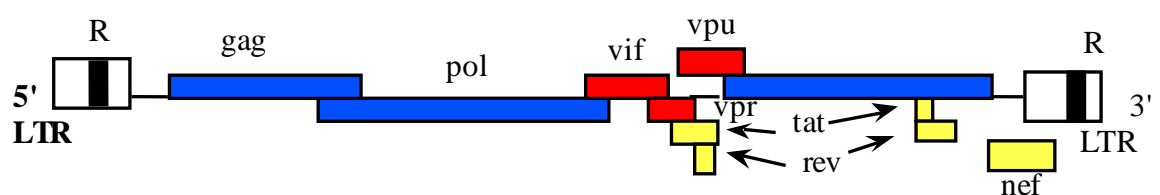


Figura 1. Estructura del VIH-1 o Virus de la Inmunodeficiencia Humana. El virión consta de una envuelta lípido-proteica y una nucleocápsida de forma cónica

El **ARN** viral tiene una longitud de 9,2 Kpb y comprende las secuencias repetidas situadas en los extremos del genoma (LTR) y nueve genes: seis reguladores (*tat*, *rev*, *ref*, *vif*, *vpr* y *vpu*) y tres estructurales (*gag*, *pol* y *env*)¹⁴ (Figura 2).

Figura 2. Organización genómica del VIH.



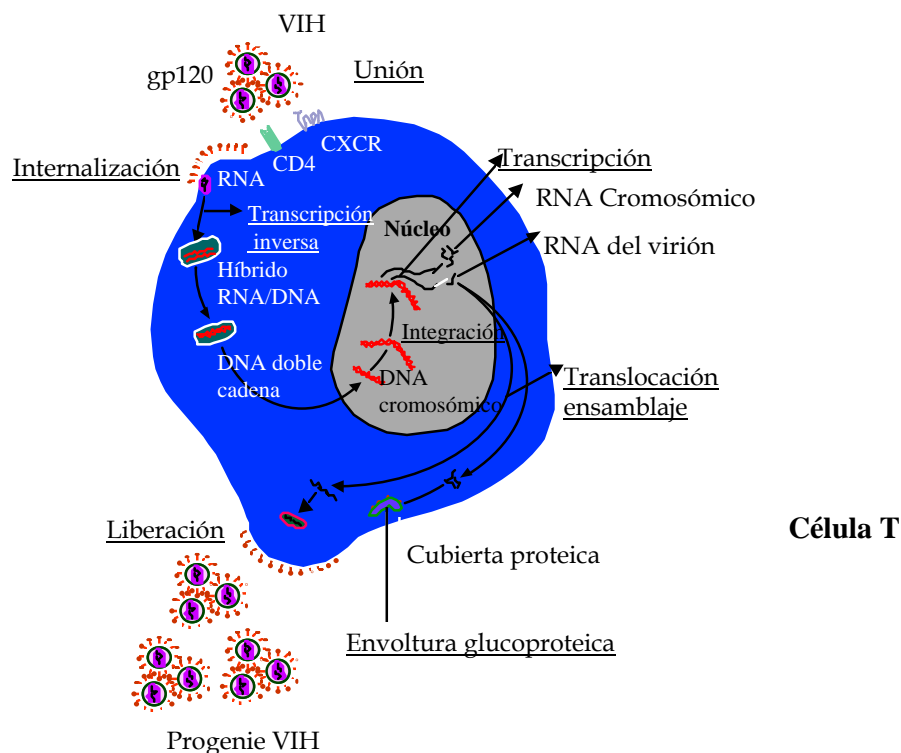
1.1.1. CICLO BIOLÓGICO DEL VIH

La infección comienza con la interacción entre la gp120 y su receptor en la célula huésped, lo que ocasiona diversos cambios conformacionales en la gp120 que resultan en la exposición de epítomos previamente ocultos, que se unen a un segundo receptor, o correceptor, perteneciente a la familia de las quimiocinas, generalmente CCR5 o CXCR4^{15, 16}. La unión con el correceptor desencadena a su vez otros

cambios conformacionales en la proteína transmembrana, la gp41^{17, 18}. Este proceso permite la **fusión** de la envuelta viral con la membrana celular (Figura 3).

Una vez que la nucleocápside viral se encuentra dentro del citoplasma celular ocurre el siguiente paso en el ciclo replicativo del virus, la transformación de ARN en ADN bicatenario. Este proceso lo lleva a cabo la enzima transcriptasa inversa o **retrotranscriptasa** (RT), que es transportada en el propio virión. El ADN proviral es transportado al núcleo celular en un proceso en el que participan las proteínas virales p17 y Vpr¹⁹, además de otros factores celulares que forman la maquinaria de importación al núcleo. Posteriormente el ADN proviral es integrado en el genoma por medio de la **integrasa** viral, aunque también se ha demostrado la presencia de ADN proviral no integrado que es susceptible de integración si la célula es activada. El ADN proviral integrado puede seguir un comportamiento variable: permanecer latente, replicarse de forma controlada o experimentar una replicación masiva. La replicación viral es un proceso sometido a una regulación compleja y depende tanto de factores virales como celulares^{20, 21}. La existencia de un reservorio de provirus en estadio latente en linfocitos T CD4⁺, aunque sea en pequeña cantidad, imposibilita la erradicación de la infección con las terapias actuales ya que ningún fármaco es capaz de actuar en los provirus no replicativos²².

El VIH utiliza el procesamiento alternativo de su transcrito de ARN completo para generar los diferentes ARN mensajeros que se requieren para la expresión de sus diferentes proteínas. Una vez procesadas las proteínas virales son modificadas después de la transducción antes del ensamblaje en lo que constituiría las partículas virales maduras²³. La **proteasa** viral corta proteolíticamente el precursor proteico p55 en las proteínas de la nucleocápsida p24, p17, p9 y p6 para permitir la formación de partículas virales maduras. El ciclo infectivo termina con la salida de nuevos viriones por gemación.

Figura 3. Ciclo de infección del VIH.

1.1.2. DINÁMICA VIRAL

A diferencia de otros virus, la infección *in vivo* por el VIH se caracteriza por una alta tasa de producción y renovación del virus. Se estima que la vida media de una célula infectada es de unos 2 días, y la de un virión en plasma es de unas 6 horas, lo que implica que casi la totalidad de la población viral del plasma se renueva cada día (del orden de 10^9 a 10^{10} viriones nuevos por día)²⁴⁻²⁶.

Otra característica esencial de la replicación del VIH en vivo, es que cada ciclo infectivo introduce al menos un error aleatorio durante la transcripción inversa del genoma vírico. Este hecho se deriva de una propiedad intrínseca de la RT, que a diferencia de otras polimerasas de ADN, es incapaz de realizar correcciones²⁷. Por tanto, puesto que la infección persistente por VIH requiere que los ciclos de replicación del virus se repitan de forma constante, cada paciente alberga una multitud de copias ligeramente diferentes del VIH, conocidas como **cuasiespecies**²⁸. A menudo las mutaciones aleatorias destruyen la funcionalidad de los genes virales, pero la selección constante de la cepa viral mejor adaptada biológicamente es un proceso continuo durante la infección²⁹⁻³¹. Mientras que alguna mutación puede

reducir la eficiencia biológica o *fitness* de las cuasiespecies virales, otras pueden conferirles ventajas porque mejoren su capacidad de replicación; permitiéndole evadir un determinado componente de la respuesta inmunitaria contra el virus o reduciendo la susceptibilidad a los fármacos antirretrovirales^{28, 32, 33}.

1.1.3. CÉLULAS DIANA DEL VIH

Los linfocitos T CD4⁺ y las células del linaje monocítico (monocitos, macrófagos, eosinófilos, células dendríticas, células de microglía...) son las dianas principales del VIH, pero también infecta *in vitro* a una gama amplia de células primarias y líneas celulares que pueden o no expresar CD4 o correceptores del VIH^{17, 34}.

El tropismo celular del VIH se describe por la habilidad de los aislados virales para crecer *in vitro* en macrófagos (monocitotrópicos), células T (linfocitotrópicos) o en ambos tipos celulares. El correceptor empleado en el proceso de fusión del virus con la célula huésped determina el tropismo³⁵⁻³⁷. Los aislados virales inductores de sincitios (**SI/X4**) suelen ser linfocitotrópicos y los aislados no inductores de sincitios (**NSI/R5**) monocitotrópicos. La mayoría de los pacientes presentan virus monocitotrópicos (NSI/R5) en las fases tempranas de la infección y con la progresión de la misma los virus predominantes varían a NSI/X4, lo que se acompaña de un deterioro clínico³⁸. A su vez, se ha observado como terapias antirretrovirales eficaces pueden revertir el tropismo viral mayoritario hacia un fenotipo más favorable para el paciente³⁹.

La importancia de los correceptores en el proceso de fusión, se corrobora con la identificación de individuos expuestos al VIH no infectados, homocigotos para una delección de 32 pb en el gen CCR5 (CCR5- Δ32) que impide la expresión de dicho correceptor, lo que confiere alta resistencia a la infección primaria^{40, 41}. Aunque la heterocigosis para CCR5- Δ32 no es protectora frente a la infección por el VIH, si enlentece la progresión de la enfermedad, y es frecuente encontrar individuos heterocigotos para CCR5- Δ32 entre los individuos no progresores a largo plazo⁴²⁻⁴⁴.

1.2. VÍAS DE TRANSMISIÓN DEL VIH

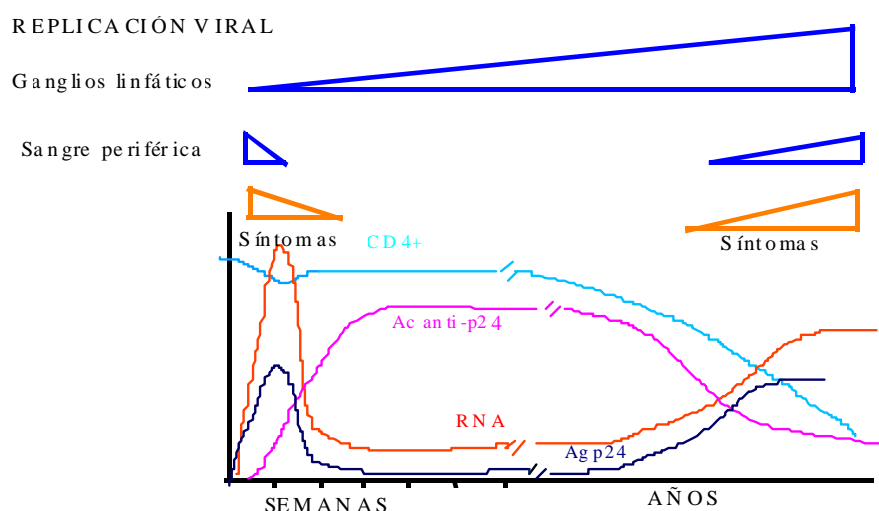
Las vías de transmisión de la infección por el VIH han sido bien identificadas e incluyen contagio por vía sexual, por vía parenteral y transmisión madre-hijo. La **vía vertical** constituye en la actualidad el principal mecanismo de infección VIH en la edad pediátrica y puede ocurrir tanto en el embarazo, parto o lactancia; 10% de los casos de infección vertical ocurren antes del tercer trimestre, 75% en las etapas finales de la gestación o en el parto y entre 10-15% pueden acontecer durante la

lactancia materna⁴⁵. Sin aplicar ninguna medida profiláctica en 15-30% de los casos la infección se transmite desde la madre al niño⁴⁶⁻⁴⁹. Gracias al empleo de ARV en la madre, durante el parto y en las primeras 4 semanas de vida del niño junto a la posibilidad de cesárea electiva, las probabilidades de contagio madre-hijo se han reducido a <2%⁵⁰⁻⁵².

1.3. HISTORIA NATURAL DE LA INFECCIÓN POR EL VIH EN NIÑOS

A pesar de que el curso clínico de la infección en niños infectados por vía vertical sigue un patrón similar al descrito en adultos (Figura 4), con las 3 fases; infección primaria, latencia clínica y enfermedad de SIDA propiamente dicha, el ritmo de progresión es más acelerado ya que la infección ocurre en sujetos con un sistema inmune en desarrollo, en el que además el número de células susceptibles de ser infectadas es mayor^{53, 54}.

Figura 4. Curso clínico de la infección VIH.

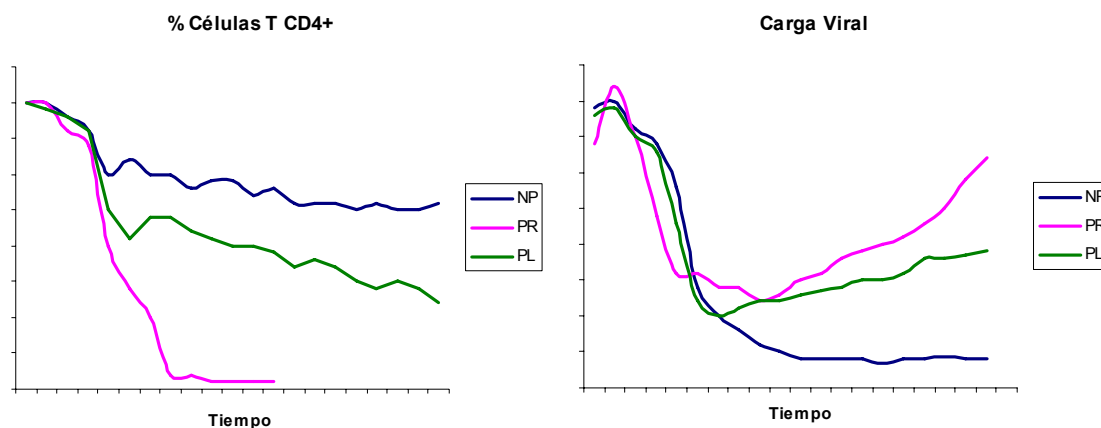


En general se describen 2 patrones clínicos tras la infección por vía vertical del VIH (Figura 5); entre un 10-25% de los niños desarrollan una profunda inmunodepresión rápidamente lo que conlleva a la aparición de infecciones oportunistas en el primer año de vida; sin tratamiento antirretroviral (TAR) más del 80% de estos niños fallecerán antes de los 2 años de vida^{55, 56}. No obstante, la mayoría de los niños presentan una progresión más lenta hacia la fase SIDA con una media de supervivencia sin tratamiento, que varía entre los 6-9 años⁴⁴. Se postula que los niños con una **evolución rápidamente progresiva** probablemente han resultado infectados intraútero en fases precoces del embarazo, momento en que el timo y otros componentes del sistema inmunológico del feto son muy inmaduros y no

pueden llegar a desarrollarse completamente al ser infectados por el VIH. Actualmente se identifica la transmisión intraútero mediante la detección del virus en los recién nacidos en las primeras 48 horas de vida, y la transmisión intraparto se define mediante la identificación del virus tras los primeros 7 días de vida. Entre un 10-30% de los niños tienen viremia detectable en las primeras 48 horas, y generalmente se corresponden con los niños que presentan una evolución más rápida de la enfermedad^{57, 58}. El grupo de niños que sigue una **evolución más lenta**, se corresponde muy probablemente con los infectados perinatalmente al final de la gestación o en el momento del parto. Su sistema inmune aunque inmaduro, es capaz de iniciar una respuesta frente al VIH que les permite durante meses o años convivir con la infección, hecho que la larga se traduce en una mayor supervivencia⁵⁹. Aunque las alteraciones inmunológicas aparecen más tardíamente, los niños pueden presentar signos inespecíficos de infección en los primeros 6-12 meses de vida. Estos síntomas suelen mejorar superado el primer año, incluso desaparecer, para dar paso a un período asintomático de 2 a 5 años de duración, en los que los niños presentan signos leves de enfermedad. Pasado estos 4-5 años se produce un deterioro inmunológico en ausencia de tratamiento. El sistema de clasificación pediátrica describe la evolución natural de la infección sin tratamiento antirretroviral⁶⁰.

Las características inmunológicas y biológicas de estos 2 grupos indican que la infección se ha producido en distintos momentos de la maduración fetal, y por lo tanto de la maduración inmunológica⁶¹. El recién nacido no infectado está en condiciones de realizar una respuesta inmunológica adecuada, si bien no tiene memoria inmunológica por no haber estado en contacto con la mayoría de los agentes infecciosos. Los neonatos infectados por transmisión vertical, por el defecto inmunológico secundario a la infección por el VIH, presentan la mayoría de las veces una respuesta deficitaria, que a su vez facilita otras infecciones intercurrentes⁶².

Figura 5. Representación esquemática de diferentes cursos de la infección en niños por el VIH en base a la evolución de la carga viral y el recuento de células T CD4⁺. NP: no progresores; PR: progresores rápidos; PL: progresores lentos



1.3.1. HISTORIA DE LA INFECCIÓN VIH CON TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL EN NIÑOS

Desde la introducción del tratamiento antirretroviral de gran actividad (TARGA), el porcentaje de progresión a SIDA y las muertes relacionadas con el VIH en niños han disminuido de forma dramática⁶³⁻⁶⁵. Este avance ha sido más evidente desde que en 1996 se comercializaran los primeros IP^{54, 66, 67}. El objetivo fundamental de la terapia en pacientes que nunca han recibido tratamiento debe ser disminuir al máximo la re replicación viral⁶⁸.

No obstante, muchos niños que comienza un TARGA no alcanzan cargas virales plasmáticas (CV) indetectables probablemente debido a; presencia de mayores niveles de viremia en plasma, uso secuencial de pautas de tratamiento no del todo efectivas, incapacidad para alcanzar adecuados niveles del fármacos en sangre o ausencia de adherencia completa al tratamiento^{69, 70}. Muchos de estos niños tienen cepas virales resistentes a los fármacos disponibles para tratar la infección y por tanto su pronóstico empeora. Sin embargo, aproximadamente un 40% de estos niños que no logran una supresión viral completa si obtienen beneficios inmunológicos de la terapia, con un aumento en la cifra de células T CD4⁺, probablemente debido a la selección de cepas virales con menor *fitness* gracias a la terapia⁷¹.

1.4. EPIDEMIOLOGÍA DE LA INFECCIÓN VIH EN NIÑOS

1.4.1. EPIDEMIOLOGÍA DE LA INFECCIÓN POR EL VIH EN EL MUNDO

El número de personas infectadas por el VIH ha aumentado desde el inicio de la pandemia. El programa ONUSIDA estimó en **39,5 millones** (entre 34,1 y 47,1) el número de personas infectadas a finales de 2006. Entre estas cabe destacar que 2,3 (entre 1,7 y 3,5) son pacientes menores de 15 años y en su mayoría infectados por transmisión vertical. Durante el año 2006 hubo 4,3 millones (3,6- 6,6) de nuevas infecciones, de las cuales 530.000 (410.000- 660.000) se produjeron en menores de 15 años. Del número total de muertes ocasionadas por el VIH durante dicho año, 2,9 millones (2,5- 3,5) 380.000 ocurrieron en < 15 años (290.000-500.000)⁷².

A pesar de los avances en prevención y el desarrollo de terapias antirretrovirales, la epidemia sigue su avance. Más de 25 millones de personas han fallecido desde que la infección fue descubierta en 1981. En la actualidad, las mujeres que se contagian por vía sexual representan casi dos tercios de los nuevos casos de infección VIH en el mundo. En países desarrollados han disminuido considerablemente las tasas de transmisión vertical a < 2%, cifras muy lejanas a la realidad de países pobres, especialmente del África Subsahariana donde ya existen más de 15 millones de huérfanos debidos a esta infección y menos de un 10% de las mujeres infectadas por el VIH tiene acceso a pautas de profilaxis de transmisión vertical⁷³. Se calcula que en los países pobres existen aproximadamente 6,8 millones de personas que necesitan urgentemente terapia antirretroviral, de ellas solo 1,65 millones la están recibiendo⁷⁴.

1.4.2. EPIDEMIOLOGÍA DE LA INFECCIÓN POR EL VIH EN ESPAÑA

En 1981 se detectó el primer caso de SIDA pediátrico en España en un niño hemofílico y en 1984 el primer caso por transmisión madre-hijo⁷⁵. Desde entonces el número de casos nuevos de SIDA en niños ha ido aumentando hasta alcanzar el máximo en 1988, y a partir de ese año se observa una estabilización o débil descenso en su incidencia gracias al control de la transmisión madre-hijo. En los últimos años las cifras de transmisión vertical han disminuido por debajo del 2% (2000, 12 casos; 2001, 10 casos; 2002, 9 casos; 2003, 8 casos; 2004, 4 casos y 2005, 8 casos).

El Registro Nacional de SIDA ha recogido 72.099 casos declarados desde 1981 hasta diciembre de 2005. Por comunidades autónomas, en Madrid se ha contabilizado un mayor número de ellos (17.288 pacientes), seguido de Cataluña y Andalucía, con 15.016 y 10.135 respectivamente. El número de casos declarados en

niños <13 años hasta diciembre de 2005 fue de **995** niños (433 niñas y 462 niños); el 98% se produjo por transmisión vertical⁷⁶.

1.5. DIAGNÓSTICO DE LA INFECCIÓN POR EL VIH EN EL NIÑO

El paso de anticuerpos tipo IgG a través de la placenta hace preciso el empleo de métodos virológicos directos para el diagnóstico en menores de 18 meses⁷⁷. Es esencial el cribado de la infección en todas las gestantes para identificar a todos los niños expuestos al virus durante la gestación, en los cuales se deben realizar métodos directos de detección del virus, preferiblemente determinación de la carga viral del VIH (mediante la detección de **ARN** del VIH por reacción en cadena de la polimerasa, PCR) o **DNA-PCR** en las primeras 48 horas de vida (sensibilidad 38%) y que debe repetirse a las 3-4 semanas y a las 6-12 semanas, con una sensibilidad entre el 96-99%^{78 2006}. El diagnóstico se establece mediante 2 resultados positivos de test virológicos directos realizados en muestras de sangre diferentes independientemente de la edad, que se ha de confirmar con la persistencia de anticuerpos pasados los 18 meses de vida. A su vez, la infección puede excluirse en niños que no reciban lactancia materna, mediante 2 pruebas virológicas directas negativas realizadas en mayores de un mes, siendo al menos una de ellas realizada pasados los primeros 4 meses de vida. Se ha de confirmar la pérdida de anticuerpos maternos para excluir definitivamente la infección. Dos resultados serológicos negativos realizados en mayores de 6 meses, habiendo transcurrido al menos 1 mes entre ellos, también puede emplearse como criterio para excluir la infección⁷⁹.

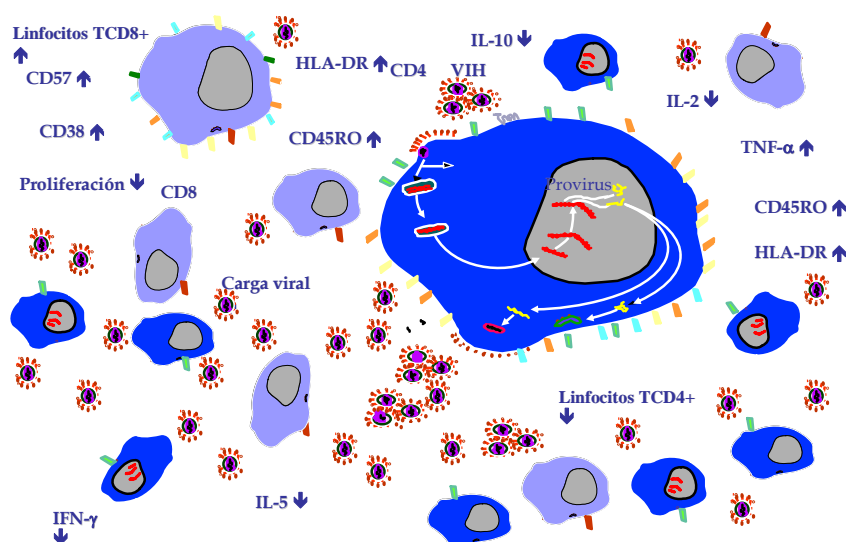
1.6. EFECTOS INMUNOLÓGICOS DE LA INFECCIÓN

El sistema inmune funciona mediante una serie de complejas interacciones entre células y moléculas, orquestadas de forma efectiva en la defensa contra procesos dañinos para el organismo. En el caso de las infecciones virales, las células T inician su control mediante una respuesta específica frente a cada tipo de virus. Sin embargo, la infección VIH supera este mecanismo de protección (Figura 6).

El principal efecto de la infección por el VIH en el organismo es una progresiva **pérdida del número de células T CD4⁺** en sangre periférica y tejido linfoide⁸⁰. La inmunodeficiencia producida por el VIH es el resultado de una desregulación de la dinámica de las células T. Se observan defectos funcionales en las células que incluyen; fallos en la proliferación y en la producción de citocinas en respuesta a antígenos comúnmente encontrados y anergia para hipersensibilidad retardada en la piel. Además de la profunda deficiencia inmune, el VIH también induce un estado de activación inmune crónica en las células T CD4⁺, T CD8⁺ y monocitos. Este hecho,

limita la capacidad del huésped de proveer defensas contra patógenos oportunistas, potenciando la propagación del VIH y que las células T CD4⁺ activadas sean más permisivas a la replicación del virus⁸¹.

Figura 6. Alteraciones en el sistema inmunológico durante la historia natural de la infección.



1.6.1. CÉLULAS T CD4⁺

Las infecciones oportunistas (IO) son principalmente debidas a defectos en número y funcionalidad de las células T CD4⁺, como resultado directo o indirecto de la infección por el VIH. Los efectos directos incluyen citotoxicidad con pérdida de células T CD4⁺ y entre los indirectos cabe destacar; disminución de la proliferación y diferenciación de células T CD4⁺, desregulación y disminución de la producción de IL-2, formación de colonias defectivas y otras alteraciones a nivel de precursores como la infección de células progenitoras CD34⁺ de la médula ósea y timocitos. Estos defectos pueden contribuir a la falta de reconstitución o recuperación de células T en fases más tardías de la enfermedad⁸².

La infección por el VIH se caracteriza por una inversión del cociente de células T CD4⁺/CD8⁺⁸³. Hasta fases muy avanzadas de la enfermedad, el número total de células T CD34⁺ permanece relativamente constante con el aumento de células CD8⁺ que contrapesan la pérdida de células CD4⁺. Este fenómeno se llama homeostasis de las células T y ya ha sido descrito en otras enfermedades⁸⁴. En las fases tardías de la infección, los defectos en la linfopoyesis producen una incapacidad para mantener la homeostasis de células T, produciéndose una pérdida subsiguiente de ambos tipos celulares CD4⁺ y CD8⁺.

1.6.2. CÉLULAS T CD8⁺

El porcentaje o número absoluto de células T CD8⁺ varían a lo largo del curso de la enfermedad por el VIH. Después de la infección aguda, se observa un incremento de células T CD8⁺ por encima de los valores descritos en la población no VIH, que puede permanecer elevado durante un tiempo prolongado^{85, 86}. Este aumento de las células T CD8⁺ durante todo el período de infección, menos en la fase tardía de la enfermedad, puede reflejar la expansión de células T citotóxicas CD8⁺ VIH-específicas⁸⁷⁻⁸⁹. Durante la progresión de la enfermedad, se observa una pérdida de la actividad citotóxica, que no solo afecta a la dirigida contra el VIH, sino a otros antígenos como comunes como el Virus de Epstein-Barr o el Mycobacterium Tuberculosis⁹⁰.

1.7. CARACTERÍSTICAS INMUNOVIROLÓGICAS DE LA INFECCIÓN VIH EN LOS NIÑOS

Como ha sido expuesto en el apartado 1. 6.1, el curso clínico de la infección VIH en la infancia se diferencia fundamentalmente del descrito en adultos por su más rápida progresión⁵³. Así mismo, el valor predictivo de los linfocitos T CD4⁺ y de la carga viral (CV) es menor por el solapamiento que existe en los primeros meses de vida entre los progresores rápidos y lentos⁹¹. La estimación del riesgo de progresión de la enfermedad en función de linfocitos T CD4⁺ y CV en niños se basa en un metaanálisis realizado en 3941 niños de 8 cohortes y 9 estudios aleatorizados⁹². Las variaciones que el número total de linfocitos acontecen en la infancia hacen que hasta los 6 años de vida sea más útil el empleo de la cifra de porcentaje de linfocitos T CD4⁺ para monitorizar la infección⁹³. No obstante, cuando el recuento absoluto de linfocitos totales es inferior a 3.000 se ha de ser cauto en la interpretación del porcentaje de células T CD4⁺, pues no es tan buen indicador de progresión⁹⁴. Un porcentaje bajo de células T CD4⁺ es un marcador pronóstico de progresión, aunque no hay un punto de corte de evolución a SIDA o muerte definido, especialmente en los menores de un año en los que además el riesgo de progresión a SIDA, independientemente del estadio inmunológico considerado, es superior que en los niños más mayores. Sin tratamiento, el mayor descenso de linfocitos T CD4⁺ acontece en el primer año de vida (250 células/mm³/año), disminuyendo entre los 1 y 6 años (73 células/mm³/año). A partir de entonces la disminución es similar a la observada en adultos (60 células/mm³/año)⁷⁸.

El valor de la CV se relaciona inversamente con el pronóstico. Aunque la CV suele ser baja al nacer (<10.000 copias/ml), aumenta enormemente hacia los 2 meses de vida, pudiendo alcanzar incluso niveles de hasta 10 millones de copias/ml tras la

primoinfección. A continuación, disminuye a un ritmo de 0,6 log₁₀/año los primeros 12-24 meses y, posteriormente a 0,3 log₁₀/año, sin TAR⁹⁵. Durante el primer año de vida es difícil interpretar los valores de CV, pues éstos se solapan tanto en niños con progresión a SIDA como en los que no progresan. El valor basal de células T CD4⁺ y la CV, así como sus cambios evolutivos, son los marcadores más precisos para el pronóstico⁹⁶⁻⁹⁸.

1.8. TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL EN LA INFANCIA

1.8.1. PECULIARIDADES DE LA TERAPIA ANTIRRETROVIRAL EN NIÑOS

El tratamiento antirretroviral es un reto para el niño, su familia y los médicos que los atienden⁹⁹. La administración de varios fármacos más de una vez al día es a menudo problemática y muchos de los antirretrovirales no tienen presentaciones pediátricas y sólo están disponibles en comprimidos o cápsulas, haciendo difícil su administración en los niños de menor edad¹⁰⁰. El sabor es, en general, desagradable y el volumen, de aquellos preparados en solución, elevado. El mal cumplimiento del tratamiento es la primera causa de fracaso terapéutico en la infancia, existiendo una clara asociación entre respuesta y adherencia a la terapia^{56, 101-103}. Además, muchos de los nuevos ARV no han sido aprobados para su uso en la edad pediátrica por carecer de datos de farmacocinética y farmacodinamia. Por las dificultades para realizar ensayos clínicos, la mayoría de pautas son una adaptación de la experiencia previa en la edad adulta tras comprobar la farmacocinética y seguridad en los niños (fases I/II).

La adherencia al TAR en los niños y, en especial en los adolescentes, es un punto clave. Deben ponerse todos los medios y un equipo multidisciplinar (psicólogos, trabajadores sociales, farmacólogos...) para ayudar a la familia y/o tutores a realizar de forma correcta el tratamiento pautado y asegurar un buen cumplimiento de los pacientes¹⁰⁴⁻¹⁰⁷.

1.8.2. OBJETIVO DE LA TERAPIA ANTIRRETROVIRAL

El objetivo principal de la terapia en pacientes que nunca han recibido tratamiento (*pacientes naïve*) es **disminuir al máximo la replicación viral**, consiguiendo niveles de CV por debajo de los límites de detección⁵⁴. En muchos niños, especialmente en aquellos con CV inicial elevada, esto es difícil de conseguir. Para ello es obligado utilizar una combinación potente de fármacos y conseguir una buena adherencia del niño, evitando así la aparición de resistencias¹⁰⁸. A pesar de no mantener la máxima supresión viral, la mayoría de los niños tratados tienen una buena reconstitución inmune, a expensas fundamentalmente de células nativas, lo que apoya la idea de

que un tratamiento precoz con TARGA puede asociarse a una mejor recuperación inmunológica¹⁰⁹. Por eso, mejorar o mantener la situación inmunológica para que logre evitar la progresión clínica debe ser también un objetivo a considerar en las terapias antirretrovirales^{110, 111}.

1.8.3. CICLO VIRAL Y AGENTES ANTIVIRALES

Varios pasos en el ciclo biológico del VIH son la diana de los agentes ARV que están actualmente disponibles¹¹² (Figura 7). Los inhibidores de la RT viral fueron los primeros agentes desarrollados para el tratamiento de la infección por el VIH en el año 1987 y aún en día, siguen siendo componentes fundamentales de los regímenes terapéuticos^{113, 114}. La mayoría de los inhibidores de la RT son análogos de nucleósidos (**NRTI**) que actúan como terminadores de cadena durante la síntesis del ADN viral en virtud de su estructura (falta 3'-OH necesario para alargamiento de la cadena de ADN). Los NRTI circulan en el plasma de forma inactiva y deben ser trifosforilados en el interior del citoplasma celular para convertirse en nucleótidos^{115, 116}. También se incluye en este grupo los análogos de nucleótidos que comparten con los NRTI un mecanismo de acción similar pero que solo precisan 2 fosforilaciones intracelulares para ser activos¹¹⁷.

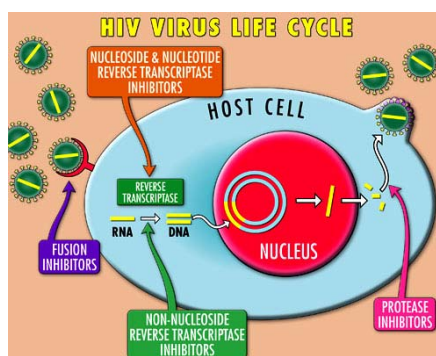
Otra familia de fármacos antirretrovirales son los inhibidores de la RT no análogos de nucleósidos (**NNRTI**) que se unen de forma no competitiva en un sitio cercano al centro catalítico de la enzima, lo que provoca una serie de cambios conformacionales que disminuyen su actividad⁵⁴.

Los inhibidores de la proteasa (**IP**) fueron introducidos en 1996, lo que supuso un punto de inflexión en la historia natural de la enfermedad¹¹⁸. La llamativa reducción en la morbi-mortalidad asociada a la infección VIH desde esa fecha está en relación con la utilización generalizada de combinaciones de al menos 3 fármacos con acción sinérgica frente al VIH en pautas conocidas como tratamiento antirretroviral de gran actividad (TARGA). El mecanismo de acción de los IP está basado en el bloqueo de la acción de la enzima proteasa del VIH que esta formada por 2 monómeros estructuralmente idénticos que se ensamblan para formar la región catalítica inhibida por estos fármacos¹¹⁹.

La última familia de antirretrovirales disponible hoy en día, son los inhibidores de la **fusión** que impiden la entrada del virus en la célula. Su único representante es el T-20 cuyo mecanismo de acción se basa en que su secuencia es similar a la del dominio

HR2 de la gp41, e interacciona en su lugar con el dominio HR1, impidiendo así el acercamiento de las membranas celular y viral previo a la fusión¹²⁰. Se está trabajando en el desarrollo de fármacos orientados hacia nuevos objetivos del ciclo vital del VIH como la integración del ADN viral (provirus) en el ADN de la célula hospedadora o la entrada del virus en la célula a través del bloqueo de los correceptores CCR5 o CXCR4¹⁶.

Figura 7. Lugar de acción de los ARV en el ciclo biológico del virus.



1.8.4. RECOMENDACIONES TERAPÉUTICAS ACTUALES

A pesar de que desde el inicio de la infección se ha acumulado gran experiencia científica sobre el uso de ARV en la infancia, no existe hoy en día un consenso unánime sobre cuando comenzar un TAR, con qué fármacos hacerlo y cuales son las opciones disponibles tras un fracaso virológico^{78, 98, 121}. Las recomendaciones vigentes en nuestro país recogen la tendencia global para mantener un equilibrio entre; no retrasar demasiado el inicio del TAR, para evitar el deterioro inmunológico y la consiguiente progresión clínica, y no acelerar su inicio para minimizar los efectos secundarios descritos a largo plazo.

1.8.4.1. CRITERIOS DE INICIO DE TAR

En la actualidad, a los marcadores inmunológicos, en especial la cifra de linfocitos T CD4⁺, se les atribuye más relevancia como indicadores de inicio y cambio de TAR y se emplea la CV, fundamentalmente para evaluar la respuesta^{122, 123}. A su vez, en los niños la edad es un factor decisivo para iniciar un TAR, ya que cuanto más pequeño es un niño, especialmente si es **menor de 12 meses**, el riesgo de progresión a SIDA o muerte es mayor¹²⁴.

El valor pronóstico de la cifra de linfocitos T CD4⁺ y CV es más limitado en los lactantes menores de un año que en los niños más mayores, por lo que la mayoría de los expertos recomiendan iniciar un tratamiento potente y precoz independientemente

del valor de los linfocitos T CD4⁺ y CV en este grupo de edad, para evitar el deterioro tímico y la afectación del Sistema Nervios Central (SNC)¹²⁵⁻¹³². No obstante, se ha observado que la respuesta inmuno-específica en niños tratados en el primer año de vida podría ser peor cuanto más precoz es el inicio de TARGA, por ello, tras confirmar el diagnóstico de la infección, podría considerarse demorar el inicio del TAR hasta los 6 meses tras realizar un estudio de resistencias, por la posibilidad de haber sido infectado por una cepa resistente, sobre todo si la madre recibió TAR durante la gestación^{129, 133-135}. Así mismo, podría valorarse en lactantes seleccionados, no iniciar un TAR siempre que permanezcan asintomáticos, con %CD4⁺ >35% y CV < 10⁶ copias/ml y pueda asegurarse una estrecha monitorización clínica y analítica cada 4-8 semanas.

A partir del primer año de vida, existe indicación de iniciar TAR si el riesgo de progresión a SIDA en los siguientes 12 meses es ≥10%. Este riesgo se establece si el porcentaje de CD4⁺ es <20% en niños con edades entre 1 y 3 años y < 15% en >3 años. En >1 año, un valor de CV >250.000 copias/ml obliga a considerar el inicio de TAR. Por debajo de este nivel, en niños asintomáticos o con pocos síntomas (estadio N o A del CDC) y con %CD4⁺ >20%, se podría diferir el inicio del TAR manteniendo una monitorización estrecha⁷⁸.

1.8.4.2. COMBINACIONES DE FÁRMACOS EN TERAPIA DE INICIO

En el primer año de vida es preciso emplear terapias potentes, que alcancen adecuados niveles en plasma y conseguir una completa adherencia del paciente¹³⁶. Como se ha comentado anteriormente, el TARGA consiste en combinaciones de 3 fármacos de, al menos, 2 familias diferentes. Entre las opciones de primera elección en menores de 1 año se incluyen; 2 NRTI + 1 IP o bien 3 NNRTI (incluyendo abacavir; ABC)+ nevirapina (NVP). Actualmente se disponen de datos de farmacocinética, incluso en neonatos, de IP como nelfinavir (NFV) o lopinavir-ritonavir (LPV/r), e incluso en < 6 meses se ha demostrado la eficacia de LPV/r a dosis más elevadas (800/mg/m²/dosis)¹³⁷⁻¹³⁹. Tanto en las Guías Americanas como Españolas, el IP de primera línea en menores de un año es el LPV/r⁷⁸ ya que el NFV posee un metabolismo más errático en niños <2 años y son precisas dosis más altas para alcanzar niveles en sangre adecuados¹⁴⁰.

En mayores de 1 año, se recomienda también pautas con al menos 3 fármacos, de 2 familias diferentes, generalmente **2 NRTI + 1 IP** o **2 NRTI + 1 NNRTI**. Pese a la gran potencia virológica alcanzada por los regímenes TARGA con IP, el menor número de efectos secundarios de los NNRTI, así como la posibilidad de regímenes más

cómodos con menor número de pastillas hacen que actualmente, se recomiende comenzar con 2 NRTI + 1 NNRTI. Dentro de los NNRTI, el efavirenz (EFV) se considera el fármaco de primera elección en >3 años. En pacientes adultos, tanto el EFV como la NVP han demostrado una eficacia virológica similar, sin embargo, la NVP se ha asociado con un mayor número de efectos adversos, especialmente hepáticos¹⁴¹⁻¹⁴⁴. En pediatría no existen estudios comparativos entre los 2 NNRTI disponibles. Si bien, al no disponer de formulación en solución del EFV, no estar aprobado su uso en < 3 años y disponer de más datos sobre la farmacocinética de la NVP en este grupo de edad, se recomienda la NVP como NNRTI de elección en los < 3 años¹⁴⁵.

En adultos se ha comparado la efectividad de pautas TARGA que incluyan EFV vs. LPV/r y aunque no todos los estudios obtienen resultados similares, en pacientes *naïve* el empleo de EFV se asocia a una respuesta virológica tan efectiva, o incluso en algunos estudios ligeramente superior, respecto a LPV/r. No obstante, la recuperación inmunológica de los pacientes es superior en el brazo de LPV/r¹⁴⁶⁻¹⁴⁹. En pediatría existe un menor número de estudios comparando ambos fármacos, aunque recientemente se han comunicado los resultados de un estudio con 65 niños *naïve* con mejor supresión virológica en el brazo del LPV/r que EFV¹⁵⁰. No obstante, también se ha estudiado en niños los beneficios inmunológicos conseguidos tras el cambio desde una pauta con IP a una pauta libre de IP asociada a un menor número de efectos secundarios¹⁵¹.

Como alternativa al LPV/r en las pautas que empleen 2 NRTI + 1 IP, se dispone del NFV, fármaco del que se dispone de una gran experiencia en pediatría, pero que en varios estudios ha demostrado respuestas inmunológicas y virológicas inferiores a LPV/r¹⁵²⁻¹⁵⁷. Además, aunque no se recomiendan como primera opción, en casos seleccionados, puede ser preciso emplear otras combinaciones que incluyan IP diferentes al LPV/r, como saquinavir (SQV), amprenavir o indinavir potenciados con ritonavir en dosis bajas¹⁵⁸.

Actualmente, las terapias de 3 NNRTI solo se recomiendan cuando no es posible emplear el uso de NNRTI o IP, ya sea por posibles interacciones medicamentosas como por problemas con la adherencia, y siempre se deben intentar evitar en las pautas de inicio¹⁵⁹.

Entre las combinaciones de NRTI, tras los ensayos PENTA 5, en Europa se recomienda incluir en la pauta de inicio con NRTI, lamivudina (3TC) o emtricitabina (FTC) y ABC¹⁶⁰. La posibilidad de reacciones graves de hipersensibilidad, aunque

infrecuentes, hace que por ejemplo, en guías americanas no se considere al ABC como fármaco de primera elección⁷⁸.

La posibilidad de realizar pautas de 1 vez al día facilita el cumplimiento y cada vez son más empleadas¹⁶¹. Aunque existe una mayor experiencia en adultos, se han empleado pautas con una sola toma diaria con didanosina (ddl) y FTC (+ NNRTI)¹⁶². Se ha demostrado que tienen una elevada potencia y un buen perfil de seguridad por lo que pueden considerarse como terapia de inicio. También se ha empleado en > de 3 años pautas de 1 vez al día con ABC y 3TC (+ NNRTI)¹⁶³.

1.8.4.3. TERAPIA DE RESCATE

Si tras evidenciar un fracaso terapéutico se decide cambiar el régimen terapéutico se han de considerar siempre las posibilidades existentes y futuras, el cumplimiento por parte del paciente y la posibilidad de desarrollar efectos secundarios. Se ha de intentar sustituir el mayor número de fármacos posible y se aconseja disponer de una prueba de resistencias genotípica para guiar el nuevo régimen¹⁶⁴. Si la causa del fallo radica en una mala adherencia, en ausencia de resistencias demostrables podría prescribirse el mismo régimen siempre y cuando se solventen las causas del mal cumplimiento, pudiendo optar por una pauta de más fácil cumplimiento y mejor tolerada^{163, 165, 166}.

La actitud ante un niño con múltiples fracasos debe ser individualizada pues siempre se trata de situaciones complejas. En estos casos, se ha de intentar evitar sustituir un solo fármaco, al menos se debe intentar añadir 2 nuevos fármacos a la combinación para lo cual en ocasiones se ha de esperar a que nuevos agentes estén disponibles para su uso en pediatría, siempre y cuando no exista un descenso de la cifra de CD4⁺ hasta un nivel de riesgo⁶⁶. Cuando la pauta que falla consiste en 2 NRTI y 1 NNRTI se puede intentar sustituir por 2 NNRTI nuevos y un IP potenciado¹⁶⁷. Si el régimen previo incluye ya 2 NRTI y un IP, se puede intentar cambiar a 2 NRTI nuevos y 1 NNRTI o a regímenes que incluyan las 3 familias de fármacos⁷⁸. En el caso, no infrecuente, de que los niños presenten fracasos a pautas que incluyan las 3 familias se debe intentar sustituirlos por 2 ó 3 nuevos NRTI y al menos 1 IP potenciado¹⁶⁸. En casos seleccionados puede aumentarse la dosis o emplear fármacos con menor experiencia en niños como el tenofovir (TDF)¹⁶⁹ cuando otros NRTI han fallado, el tipranavir en presencia de múltiples mutaciones frente a IP¹⁷⁰ o el T-20 cuyo uso está aprobado en mayores de 6 años¹⁷¹.

1.8.5. TOXICIDAD DEL TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL EN LOS NIÑOS

Al igual que ha sido descrito en adultos, en los niños se ha reportado una mayor toxicidad a corto y medio plazo con consecuencias futuras preocupantes^{78, 172}. Las alteraciones metabólicas asociadas al TARGA son frecuentes en el niño, especialmente las **hipelipidemias**; la hipercolesterolemia aparece en un 38 a 65% de los casos y la hipertrigliceridemia en un 25% de los niños con TAR^{173, 174}. Se ha de intentar siempre mantener los niveles de lípidos en los rangos normales para la población infantil general mediante medidas higiénicas, sustituciones de ARV por otros menos hiperlipemiantes e incluso empleando fármacos hipolipemiantes. Los IP han sido la familia más vinculada al aumento de colesterol y triglicéridos, mientras que los NRTI se han asociado a un incremento aislado del colesterol, aunque con menor intensidad^{175, 176}. No todos los agentes de estas familias se han asociado a un incremento del riesgo, por ejemplo atazanavir parece ser el único IP con escaso efecto sobre los lípidos y entre los NRTI la estavudina (d4T) se ha asociado con un mayor riesgo que el TDF o ABC¹⁷⁷⁻¹⁷⁹.

Así mismo, aunque la **diabetes** es excepcional, no es infrecuente la hiperinsulinemia y la resistencia periférica a la insulina, y como en adultos, es más frecuente en pacientes con dislipemia y lipohipertrofia. Aunque al comienzo se asoció con regímenes que incluyeran un IP se ha descrito también en pautas sin éstos, y aunque se supone que la sustitución del IP podría ser útil, no existe hoy en día evidencia científica clara en la recomendación¹⁸⁰.

Aunque en niños existe menor información respecto a la incidencia y gravedad de los **síndromes de redistribución grasa**, se ha descrito en un 20-30% de los niños con TAR¹⁸¹. Puede predominar 1) *lipoatrofia*, relacionada con toxicidad mitocondrial originada por algunos NRTI, fundamentalmente; d4T, zidovudina (AZT) y ddl, ó 2) *lipohipertrofia*, con acumulo de la grasa intraabdominal y dorsocervical, relacionada con la administración crónica de IP, especialmente de indinavir, ritonavir y lopinavir¹⁸².

La hiperlactatemia leve asintomática es muy frecuente (17-32%) en niños tratados crónicamente con NRTI. No obstante, la acidosis láctica es un cuadro extremadamente grave, que aunque muy infrecuente (0,1-0,5%) tiene una tasa de mortalidad en torno al 50%. El d4T y ddl han mostrado una mayor asociación con este cuadro. Otras manifestaciones de la **toxicidad mitocondrial** como el daño hepático, la pancreatitis o la neuropatía también se han descrito con el empleo de NRTI. Otra alteración

asociada al TARGA es la alteración de la **mineralización ósea** que podría estar más en relación con la lipodistrofia y la dislipemia que con el propio tratamiento¹⁶⁹.

Las complicaciones metabólicas comprometen los beneficios obtenidos por la terapia y teniendo en cuenta las consecuencias negativas que tiene a corto, medio y largo plazo es preciso emplear fármacos con la menor toxicidad o emplear pautas de simplificación para intentar evitarla⁶⁶.

1.9. RESISTENCIAS AL TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL

A pesar de disponer de un amplio abanico de ARV, en un número importante de pacientes se constata una disminución paulatina en la capacidad de neutralización del VIH a consecuencia del desarrollo de resistencias¹⁸³. Éstas constituyen una de las principales causas del fracaso terapéutico, limitando las opciones futuras y complicando significativamente el manejo de los pacientes¹⁸⁴. Además, se ha demostrado que las cepas resistentes del VIH pueden transmitirse de una persona a otra. Alrededor de un 10% de las personas con infección reciente en EE.UU. y Europa presentan al menos una mutación de resistencia primaria¹⁸⁵⁻¹⁹¹. La probabilidad de aparición de mutantes virales resistentes se basa en cuatro grandes factores; 1) la variabilidad genética del VIH gracias a la alta frecuencia de mutaciones y a los fenómenos de recombinación, 2) la gran capacidad de replicación viral con una producción diaria de 10^{9-10} viriones al día, 3) la capacidad intrínseca de mutación de la diana viral, y 4) la presión farmacológica selectiva^{192, 193}.

1.9.1. MECANISMOS DE RESISTENCIA A FÁRMACOS ANTIRRETROVIRALES

Se han descrito diversos mecanismos implicados en el desarrollo de resistencias según las diferentes familias de fármacos ARV.

1.9.1.1. RESISTENCIA A LOS ANÁLOGOS DE NUCLEÓSIDOS Y ANÁLOGOS DE NUCLEÓTIDO INHIBIDORES DE LA TRANSCRIPTASA INVERSA

Se han descrito 2 mecanismos principales de resistencia del VIH a estos fármacos; 1) bloqueo o reducción en la unión del NRTI por competición y 2) eliminación del NRTI de una cadena de ADN completamente sintetizada^{116, 194}.

Son varias las mutaciones o combinaciones de mutaciones localizadas en la TI que pueden conferir resistencia por el primer mecanismo descrito. Algunas de ellas son:

- Mutación **M184V/I**: un simple cambio de metionina por valina en la posición 184 de la TI confiere un alto nivel de resistencia a 3TC y FTC¹⁹⁵.

- Complejo **Q151M** (A62V, V75I, F77L, F116Y Y Q151M): generalmente aparece tras la administración de regímenes que contengan d4T o ddl. La primera mutación en seleccionarse es la Q151M y tras ella se produce la acumulación gradual de mutaciones secundarias que aumentan el grado de resistencia conferido por la Q151M. Este complejo es relativamente poco frecuente aunque tiene nefastas consecuencias ya que confiere un alto grado de resistencia a todos los NNRTI¹⁹⁶.
- Mutación **K65R**: es la que primero se selecciona en regímenes no supresivos que contengan TDF. Aunque este fármaco no selecciona mutaciones de resistencia a los análogos de timidina (TAM), la presencia de alguna de ellas, en especial M41L, L210W y T215Y parece reducir la susceptibilidad al TDF. Se ha observado que la selección de la mutación M184V en presencia de la mutación K65R causa una reducción en la sensibilidad al ddl y al ABC, pero la aumenta al TDF comparado con los virus que contienen únicamente la mutación K65R¹⁹⁷.

El segundo mecanismo descrito consiste en que una vez unido el análogo a la cadena nascente de ADN es eliminado y ha sido relacionado con un grupo específico de mutaciones conocido como **mutaciones de análogos de timidina (TAM)**.

Estas mutaciones (M41L, D67N, K70R, L210W, T215Y/F y K219Q/E/R/S/N) se seleccionan más frecuentemente durante la pérdida de respuesta a regímenes que contengan análogos de timidina, tales como la ZDV o d4T, pero éstas pueden conferir resistencia al resto de análogos de nucleósidos y nucleótidos, incluyendo al TDF¹⁹⁸. Se han descrito 2 vías de acumulación progresiva de TAM según la sustitución del aminoácido (aa) en la posición 215: **215Y vs. 215F**. La mutación 215Y se asocia con la 41L y la 210W, pero en los codones 70 y 219 se encuentra, en general, aa del virus salvaje; esta sería la vía **41/210** y se asocia con otras mutaciones como la 44D. Por otra parte, existe la vía de la **70/219**, donde la 215F se suele asociar a la 70R y a la 219Q, pero no se suele asociar a mutaciones en las posición 210 ni a la 44D. Sin embargo en esta vía es frecuente la mutación 69N. La mutación 67N es la única TAM que comparte ambas vías cuando existen 3 ó 4 TAM. Con 5-6 TAM ambas vías se superponen. Las razones por las que éstas 2 vías se superponen no están aclaradas y no se pueden atribuir a un diferente nivel de resistencia, puesto que por ambas rutas la disminución en el nivel de susceptibilidad a la ZDV, fármaco con el que se han descrito, es similar. Sin embargo, como se ha comentado anteriormente para el TDF la vía 41/210 sería claramente más desfavorable. Ninguna mutación individual es

suficiente para ocasionar resistencia significativa ante cualquiera de los NRTI. Por tanto, la evolución a través de una ruta de TAM concreta requiere la acumulación gradual de mutaciones, lo que conduce a niveles crecientes de resistencia y a un mayor grado de resistencia cruzada al resto de NRTI. Cabe destacar que la eficiencia de todo este proceso puede verse negativamente afectada por la presencia de otras mutaciones en la TI, fenómeno descrito en el caso de la mutación M184V que reduce el riesgo de selección de las TAM por los NRTI incrementando incluso la actividad residual de algunos NRTI aun a pesar de la presencia de TAM¹⁹⁹⁻²⁰¹.

La inserción en la posición **69** parece favorecer la escisión de análogos de timidina. Concretamente estas inserciones, en combinación con la mutación T215Y puede favorecer la escisión de AZT, ddI y d4T. Se ha descrito que la inserción de 2 serinas en posición 69, produce resistencia cruzada a todos los NRTI ya que emplea los 2 mecanismos antes descritos. No obstante, para que esta resistencia sea de alto grado es precisa la presencia previa de las TAM^{192, 202}.

1.9.1.2. RESISTENCIA A LOS NO ANÁLOGOS DE NUCLEÓSIDOS INHIBIDORES DE LA TRANSCRIPTAZA INVERSA

La mayoría de las mutaciones descritas a esta familia de fármacos se localizan próximas a su lugar de unión a la enzima y esta localización tan específica hace que exista un alto grado de resistencia cruzada entre todos los NNRTI. Algunas de las mutaciones seleccionadas por estos compuestos son dependientes del fármaco. Por ejemplo, la mutación Y181C se halla frecuentemente asociada a la NVP, aunque otras mutaciones como la Y188C, K103N, G190A y V106A también pueden seleccionarse tras el uso de este fármaco. En el caso de EFV, una de las primeras mutaciones de resistencia que se seleccionan es la K103N aunque la Y181C, también puede ocurrir precozmente^{203, 204}.

Algunas de las mutaciones asociadas a resistencia a los NNRTI (L100I y Y181C) pueden incrementar la susceptibilidad al AZT gracias a un bloqueo de la reacción de pirofosforólisis que conduce a la escisión del NRTI unido a la cadena de ADN¹⁹².

1.9.1.3. RESISTENCIA A LOS INHIBIDORES DE PROTEASA

La resistencia a IP se produce como consecuencia de cambios en ciertos aa que se seleccionan tanto en el dominio de unión del sustrato, como en lugares distantes a este dominio²⁰⁵. La selección de virus mutantes resistentes a los IP origina cambios estructurales en los sitios de corte de la proteasa, reduciendo la afinidad de unión por el inhibidor²⁰⁶. Los efectos causados por otras mutaciones, que se seleccionan en

áreas diferentes al lugar activo de la proteasa pueden alterar la actividad catalítica de la enzima, la estabilidad estructural del dímero, la cinética de unión del inhibidor o bien producir cambios estructurales en el lugar activo de la proteasa a través de modificaciones producidas en otras áreas alejadas del centro activo^{207, 208}.

El principal mecanismo de resistencia a los IP consiste en la acumulación progresiva de mutaciones que debido al amplio grado de resistencia cruzada entre los miembros de esta familia complica futuras opciones terapéuticas, aunque incluyan fármacos nunca antes prescritos al paciente²⁰⁹. Numerosos estudios han demostrado la correlación existente entre la presencia de mutaciones de resistencia a IP básicas y la peor respuesta virológica obtenida en pacientes que ya habían tomado previamente IP²¹⁰⁻²¹². El número y la complejidad de los patrones de mutaciones descritos en la proteasa, han hecho que sea especialmente complejo establecer que mutaciones influyen y en qué medida sobre la pérdida de actividad de los fármacos. Esto se ha complicado en mayor medida al utilizarse los IP potenciados con ritonavir a dosis bajas, ya que la actividad de los inhibidores persiste a pesar de desarrollarse mutaciones, gracias a conseguirse mayores niveles en sangre²¹³. Para todos los inhibidores se ha intentado establecer cuántas y cuáles son exactamente las mutaciones relevantes, dando lugar a diferentes *scores* de resistencia genotípica^{214, 215}. Actualmente se dispone de 4 IP potenciados que presentan perfiles de resistencia diferentes, pero que una vez superado un umbral de mutaciones pierden actividad. Estos son; saquinavir/r, lopinavir/r, fosamprenavir/r y atazanavir/r. Recientemente se han comercializado otras 2 nuevos IP en los que el número total de mutaciones parece ser superior (tipranavir/r y darunavir/r)^{170, 216}.

Las últimas guías de resistencia a los antirretrovirales publicadas por la *IAS-USA panel* en septiembre de 2006 mantienen la división en las mutaciones de resistencia a los IP entre **primarias** y secundarias. Generalmente las primeras afectan al lugar de unión de la proteasa con sus sustrato, son las primeras en aparecer y por si solas originan sólo pequeñas reducciones en la susceptibilidad del fármaco. Las mutaciones **secundarias y/o compensatorias**, se acumulan secuencialmente en el virus, en el caso de persistir el tratamiento, dando lugar a variantes altamente resistentes. A pesar de que existe escasa superposición de las mutaciones primarias entre los diferentes IP, muchas de las mutaciones secundarias son comunes, lo que explica que las resistencias cruzadas de grupo sean más frecuentes cuanto más tiempo ha estado bajo el mismo tratamiento antirretroviral un paciente con fracaso terapéutico. La interpretación de las mutaciones en el gen de la proteasa se halla dificultada además

por el elevado polimorfismo (variaciones naturales de la secuencia) genético hallado en los aislados del VIH a partir de pacientes *naïve*. En el grupo de mutaciones primarias se incluyen: D30N, I47A, G48V, I50L/V, V82A/T/F/S/L/T, I84V/A/C y L90M y en el de mutaciones secundarias: L23I, L24I, V32I, L33F, M46I/L, I47V, F53L, I54V/L/T/M/A/S, G73C/S/T/A, L76V y N88D/S. Como polimorfismos asociados a resistencias destacan: 10I/V/F/R/C, 11I, 13V, 15A/V, 16E, 20M/R/T/I/V/L, 35D, 36I/V, 41K, 43T, 58E, 60E, I62V, 63P/T, 69K, 71V/T/I, 74P, 77I, 83D, 85V y 89M/I.

1.9.1.4. PRUEBAS PARA LA DETECCIÓN DE RESISTENCIAS

Las pruebas de resistencia a los ARV pueden clasificarse en 2 tipos; genotípicas y fenotípicas. Las resistencias genotípicas determinan las mutaciones en la secuencia primaria de nucleótidos de la RT, de la proteasa y de la envoltura viral, comparándola con la secuencia de una cepa salvaje. La resistencia fenotípica se basa en la medida de la replicación viral en cultivos celulares bajo la presión selectiva de concentraciones crecientes de diferentes ARV. La concentración de fármaco requerida para reducir el 50% de la producción viral *in vitro*, se expresa como la IC₅₀ de dicho fármaco y la resistencia fenotípica se interpreta como el número de veces que la cepa aislada en el paciente presenta una susceptibilidad reducida a dicho ARV²¹⁷⁻²²⁰.

Tanto las pruebas genotípicas como fenotípicas han demostrado gran utilidad para guiar un TAR²²¹. No obstante, las primeras son más empleadas en la práctica clínica habitual ya que son más económicas, rápidas y menos complejas de realizar²²². Sin embargo, ambos tipos de técnicas presentan limitaciones como el hecho de que no detectan cepas minoritarias en los pacientes y por tanto no aseguran la detección de todas las variantes o cuasiespecies virales que infectan al paciente. La mayoría de las técnicas sólo detectan una variante si esta representa más del 20% del total de la población viral²²³. Además, como se ha expuesto anteriormente, estas variantes minoritarias permanecen durante períodos muy prolongados en los pacientes tal y como han puesto de manifiesto las interrupciones estructuradas del tratamiento donde se ha evidenciado como, cepas no detectadas en el momento de la interrupción del fármaco resurgían tras variar la presión selectiva realizada sobre las cuasiespecies del paciente²²⁴⁻²²⁶. La irreversibilidad en las mutaciones que adquieren los pacientes a medida que los TAR fracasan, hace que el empleo del genotipo acumulado de los pacientes sea más útil que una prueba genotípica aislada para decidir una combinación TARGA²²⁷⁻²²⁹.

1.9.1.5. INTERPRETACIÓN DEL GENOTIPO

La Interpretación de los resultados de un test de resistencias genotípico es una labor compleja ya que existe un elevado número de mutaciones de resistencia, existen múltiples interacciones entre ellas y no todas las mutaciones afectan de igual manera a la susceptibilidad de la cepa viral^{230, 231}. Los resultados de un test genotípico de resistencias se expresan como un listado de mutaciones presentes en las cepas mayoritarias de los pacientes²³². Actualmente diversas instituciones revisan frecuentemente las mutaciones posibles en la RT y proteasa con mayor relevancia clínica entre las que destacan la Internacional AIDS Society-USA^{233, 234} y la Universidad de Stanford²³⁵. La mayoría de los informes de las pruebas de resistencia genotípicas se generan mediante 4 sistemas de interpretación:

- Los aprobados por la FDA: TruGene HIV-1 Genotyping Test (Bayer)²³⁶ y ViroSeq HIV Genotyping System (Abbott)²³⁷ que ofrecen un software para la edición de las secuencias y un algoritmo propio de interpretación en cada Kit comercializado
- Los sistemas creados por Laboratorios de referencia.
- El sistema del fenotipo virtual creado por Laboratorios Virco (VircoType systems)²³⁸⁻²⁴⁰.
- Los sistemas generados por Instituciones académicas.

Los 3 primeros sistemas tienen un acceso restringido y de entre los elaborados por Instituciones académicas solo 6 de los 10, son de uso libre y gratuito²⁴¹. De entre estos 6, el sistema generado por la Universidad de Stanford, es ampliamente utilizado y ha sido comparado con los otros sistemas de interpretación, obteniendo resultados similares sobre todo al analizar la resistencia a los NNRTI²⁴². El programa HIVdb de la Universidad de Stanford otorga un *score* total para cada fármaco teniendo en cuenta todas las mutaciones presentes en el paciente (cada mutación particular aumenta el *score* total). Se reportan 5 niveles de resistencia para cada ARV: susceptibilidad completa, potencial resistencia de bajo nivel, resistencia de bajo nivel, resistencia intermedia y alto nivel de resistencia²⁴³.

Desafortunadamente, diferentes algoritmos ofrecen diferentes interpretaciones en una misma cepa viral²⁴⁴⁻²⁴⁸. Aunque generalmente solo varían en el nivel de resistencia hallado, Ravela et al. comunicaron los resultados de un estudio realizado en 2045 adultos que mostraba como un 4,4% de los resultados de las interpretaciones del

genotipo según diferentes algoritmos eran totalmente discordantes, 29,2% parcialmente discordantes y un 66,4% totalmente concordantes²⁴⁵. Los diferentes sistemas de interpretación, en general, utilizan diferentes criterios para inferir las resistencias y aunque la mayoría de los profesionales consideran que los sistemas más fiables son los que relacionan directamente el genotipo con la respuesta virológica de los pacientes, estos se afectan por numerosos factores que reducen su valor predictivo, mientras que los sistemas creados para interpretar el genotipo (como el programa HIVdb de la Universidad de Stanford), son capaces de armonizar mejor los resultados obtenidos en los test genotípicos y fenotípicos. En adultos, se ha demostrado que el empleo del programa HIVdb para guiar un TAR, es un factor independiente predictor de respuesta a los 6 meses de tratamiento^{249, 250}. No obstante, es preciso tener en cuenta muchos otros factores junto a los resultados de las pruebas de resistencia como; la historia previa de tratamiento, la edad, la situación inmunológica y virológica de los pacientes... al elegir los fármacos componentes de un TARGA^{78, 251, 252}.

1.10. EMPLEO DE LOPINAVIR/R COMO COMPONENTE DEL TAR EN LOS NIÑOS

El lopinavir es un IP que coadministrado con dosis bajas de ritonavir, potente inhibidor del citocromo P450, consigue aumentar significativamente la bioisponibilidad y la concentración máxima de lopinavir, superando en más de 75 veces la IC⁵⁰ de la cepa *wild type* del VIH^{213, 253}. Fue aprobado su uso por la FDA para el tratamiento de la infección VIH en el año 2000²⁵⁴. Hasta el año 2006 sólo se disponía de presentación en forma de cápsulas que contenían 133,3 mg de lopinavir y 33.3 mg de ritonavir y de una solución pediátrica (5 ml= 400 mg LPV + 100 mg RIT)²⁵⁵. Recientemente se ha comercializado una nueva presentación en comprimidos, que no sólo reduce el número de pastillas que adolescentes y adultos deben tomar, sino que evita la necesidad de ser refrigerado y administrado con comida y disminuye la frecuencia de efectos adversos gastrointestinales. En los niños la dosis administrada, si no toma en el mismo régimen un NNRTI, es de 230 mg/m²/12 horas; máx. 400 mg de LPV/12h. Si toma EFV o NVP o existe sospecha de una disminución en la susceptibilidad del paciente a LPV la dosis debe aumentarse a 300 mg/m²/12 horas; máx. 533 mg de LPV/12h^{256, 257}.

1.10.1. RESISTENCIA A LOPINAVIR/R

Tanto en terapia de inicio como en terapias de rescate el LPV/r ha demostrado una gran eficacia en adultos y niños, gracias en parte a su perfil de resistencias²⁵⁸⁻²⁶⁷.

Habitualmente, la pérdida de eficacia del LPV/r se ha descrito tras la acumulación de más de 5-6 mutaciones en el gen de la proteasa y en un contexto en el que hay pérdida de sensibilidad a otros componentes del régimen empleado²⁶⁸⁻²⁷³. En numerosos estudios se ha objetivado como el fracaso a LPV/r en primera línea no se acompaña del desarrollo de mutaciones de resistencia en el gen de la proteasa y son esporádicos los casos descritos de resistencia a este fármaco en pacientes *naive*^{268, 274}. Recientemente se han comunicado casos aislados de pacientes adultos en tratamiento con LPV/r que han presentado fracaso virológico con resistencia de alto nivel a LPV/r, a consecuencia del desarrollo de mutaciones localizadas fundamentalmente en posiciones V82A previa al desarrollo de la V32I, M46M/I o I47A²⁷⁵. Las mutaciones 47V y 47A (única mutación primaria para el LPV/r en las guías IAS-USA) son los 2 cambios principales que ocurren *in vivo* en el gen de la proteasa. Mientras que para el desarrollo de la mutación I47V es preciso que se produzca un solo cambio en un nucleósido, la aparición de la mutación I47A requiere habitualmente 2 cambios de nucleósidos, aunque se han detectado pacientes en que se selecciona directamente la I47A sin estar presente la I47V. Afortunadamente la prevalencia de la mutación I47A entre los pacientes pretratados es baja (0,2%) aunque este porcentaje aumenta hasta un 6,3% si se considera la prevalencia en pacientes con fracaso a LPV/r²⁷⁶. La presencia de la mutación I47A confiere una resistencia de alto nivel al LPV/r, superando en más de 100 veces a la concentración mínima inhibitoria de la cepa salvaje. La mutación en la posición 74 conduce a una pérdida de sensibilidad, además de a LPV/r, a indinavir, amprenavir y ritonavir. Por el contrario, diversos autores han señalado la hipersusceptibilidad que esta mutación otorga al SQV/r, lo que le convierte en una buena opción a considerar en regímenes de rescate en estos pacientes²⁷⁷.

Algunas propiedades farmacocinéticas del LPV/r explican la dificultad en el desarrollo de resistencias a LPV/r. Este compuesto logra alcanzar altas concentraciones en sangre, mantiene una vida media lo suficientemente prolongada como para permitir su uso cada 12 horas con pequeñas modificaciones y a su vez, cuando alguna dosis es omitida, disminuyen rápidamente sus niveles en sangre lo que reduce el tiempo en el que existen concentraciones subterapéuticas que pueden conducir al desarrollo de resistencias.

Las guías de la IAS-USA considera dentro de las mutaciones primarias descritas para el LPV/r a la I47A como una mutación que aparece cuando se falla en primera línea al LPV/r y a las mutaciones M46L/I, G48M/V, I50V, I54T/V/A/M y V82A/F/T/S como

mutaciones que afectan a la susceptibilidad al LPV/r y que habitualmente están presentes cuando se ha fracasado previamente con otros IP. Dentro de las mutaciones secundarias o compensatorias destacan; L10I/F, G16E, K20M/I, V32I, L33F, E34Q, K43T, I47V, 58E, L63T, G73T, T74S, L89M/I y L90M²³³.

La interpretación de los resultados de resistencia genotípicos son especialmente complejos en el caso de IP potenciados con ritonavir, como el LPV/r²⁷⁸. Por ello se han desarrollado numerosos *scores* que tratan de optimizar el uso de estas pruebas en la práctica clínica. El primer *score* de resistencia al LPV/r fue desarrollado por Kempf et al. y costaba de 11 mutaciones en el gen de la proteasa (*LMS: Lopinavir mutation score*)²⁷⁹. Investigaciones posteriores con mayor número de pacientes llevaron a Parkin et al. a proponer un *score* alternativo que incluía 12 mutaciones más²⁸⁰. Posteriormente se han elaborado otros algoritmos como el de Isaacson et al. compuesto por 10 mutaciones o el del Resistance Group of the French National Agency for AIDS Research, actualizado regularmente²⁸¹.

Las concentraciones plasmáticas de LPV/r también se han relacionado con la respuesta al tratamiento^{139, 282}, tanto en adultos como en niños, y en los últimos años se ha tratado de integrar la información obtenida en las pruebas de resistencia con los datos de farmacocinética mediante el desarrollo de parámetros como el Cociente Inhibitorio Genotípico (GIQ), propuesto inicialmente por Marcellin et al. en pacientes adultos con TARGA de rescate con amprenavir²⁸³. Este cociente relaciona la concentración plasmática de LPV/r del paciente con el número de mutaciones presentes en el gen de la proteasa y recientemente ha sido demostrada su utilidad para predecir respuesta en pacientes adultos con TARGA de rescate con LPV/r^{210, 281, 284}. Es preciso por tanto homogeneizar los diferentes algoritmos de resistencia a LPV/r para poder estandarizar el empleo de herramientas como las pruebas de resistencia o la monitorización terapéutica de niveles plasmáticos de los ARV en la práctica clínica habitual.

2. OBJETIVOS

El empleo de ARV en los niños infectados por el VIH ha logrado disminuir drásticamente su morbi-mortalidad, transformando a la infección por VIH en una enfermedad crónica. No obstante, se trata de tratamientos complejos y difíciles de cumplir, que en ocasiones se asocian a fracasos terapéuticos que precisan de nuevos regímenes de rescate. El estudio durante tiempos prolongados del TARGA es crucial para mejorar el manejo clínico de esta infección en los niños ya que, por ahora, los tratamientos no erradican la infección y por lo tanto los pacientes han de mantenerlos, en la mayoría de las ocasiones, de manera continuada.

Objetivos:

1. Describir el curso clínico de la infección VIH en la práctica clínica habitual en niños con TARGA que contengan LPV/r durante al menos 12 meses.
2. Comparar la diferente evolución de la infección VIH en niños con TARGA que contengan LPV/r según sus características basales.
3. Identificar los factores basales que pueden determinar una buena recuperación inmunológica en niños infectados por el VIH con pautas TARGA de rescate que contengan LPV/r.
4. Analizar los factores basales que pueden predecir un buen control de la replicación viral en niños infectados por el VIH con regímenes de rescate que incluyan LPV/r.
5. Describir según el control de la carga viral plasmática, las características basales y durante el seguimiento en una cohorte de niños infectados por el VIH que inicien un TARGA de rescate con LPV/r.
6. Analizar las mutaciones halladas en el gen de la proteasa del VIH en el momento de inicio de un régimen TARGA con LPV/r, así como sus variaciones a lo largo del tratamiento con LPV/r.

3. *SUJETOS DE ESTUDIO Y MÉTODOS*

3.1. POBLACIÓN DE ESTUDIO

Esta Memoria ha sido realizada con un grupo de 77 niños infectados por el VIH-1 que tomaron LPV/r por primera vez en una pauta TARGA. Se reclutaron pacientes seguidos en 8 hospitales terciarios españoles, desde el año 2000 hasta el año 2003 y se siguió a la cohorte hasta Noviembre del 2006. De acuerdo a cada objetivo concreto del estudio, se seleccionaron dentro de la población total diferentes grupos.

Los niños fueron seguidos cada 3 meses con entrevistas repetidas, exámenes clínicos, y la obtención de muestras de sangre según las pautas establecidas para el seguimiento de los niños en cada centro. Los pacientes fueron seguidos durante todo el tiempo que mantuvieron el tratamiento con LPV/r. El resto de fármacos del TARGA no fue homogéneo entre los pacientes. El estudio fue dirigido de acuerdo a la declaración de Helsinki y aprobado por el Comité de Ética e Investigación Clínica de todos los Hospitales involucrados.

Los estudios realizados se han dividido en dos grupos principales:

3.1.1. ESTUDIOS CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICOS

- 1) Evolución clínica de la infección VIH-1 en niños tratados con una pauta TARGA que contenga LPV/r en la práctica clínica habitual. Estudio longitudinal multicéntrico realizado en 77 niños infectados por el VIH-1 que iniciaron un TARGA con LPV/r durante al menos 12 meses.
- 2) Evolución clínica de la infección VIH-1 en niños tratados con una pauta TARGA que contenga LPV/r según las diferentes características basales de los pacientes. Estudio longitudinal multicéntrico realizado en 77 niños infectados por el VIH-1 que iniciaron un TARGA con LPV/r durante al menos 12 meses.
- 3) Análisis de los factores basales pronósticos para mantener una adecuada supresión virológica durante el seguimiento. Estudio retrospectivo realizado una cohorte de 69 niños infectados por el VIH-1 niños que habían comenzado un TARGA con LPV/r por primera vez como terapia de rescate durante al menos 12 meses y que hubieran tomado uno o varios IP previamente.
- 4) Análisis de los factores basales pronósticos para mantener una adecuada recuperación inmunológica durante el seguimiento. Estudio retrospectivo realizado en una cohorte de 69 niños infectados por el VIH-1 niños que habían

comenzado un TARGA con LPV/r por primera vez como terapia de rescate durante al menos 12 meses y que hubieran tomado uno o varios IP previamente.

- 5) Análisis comparativo de los factores basales y durante el seguimiento según la respuesta virológica de los pacientes a una pauta TARGA con LPV/r. Estudio retrospectivo en 65 niños infectados por el VIH-1 que habían comenzado un TARGA con LPV/r por primera vez como terapia de rescate durante al menos 12 meses y que hubieran tomado uno o varios IP previamente y que tuviesen más de un 95% de todas las medidas de carga viral durante su seguimiento.

3.1.2. ESTUDIO DE RESISTENCIAS A ANTIRRETROVIRALES

- 1) Descripción de los genotipos de resistencia a antirretrovirales en el momento basal y durante el seguimiento con una pauta TARGA con LPV/r. Estudio retrospectivo en 43 niños infectados por el VIH-1 que habían comenzado un TARGA con LPV/r por primera vez como terapia de rescate durante al menos 12 meses y que hubieran tomado uno o varios IP previamente y que tuviesen un test genotípico de resistencia a antirretrovirales al inicio del estudio.
- 2) Utilidad de la interpretación del genotipo basal para predecir respuesta virológica tras el inicio de una pauta TARGA de rescate con LPV/r. Estudio retrospectivo en 43 niños infectados por el VIH-1 que habían comenzado un TARGA con LPV/r por primera vez como terapia de rescate durante al menos 12 meses y que hubieran tomado uno o varios IP previamente y que tuviesen un test genotípico de resistencia a antirretrovirales al inicio del estudio.
- 3) Variación de las mutaciones de resistencia halladas durante el seguimiento con una pauta TARGA de rescate que contiene LPV/r. Estudio retrospectivo en 16 niños infectados por el VIH-1 que habían comenzado un TARGA con LPV/r por primera vez como terapia de rescate durante al menos 12 meses y que hubieran tomado uno o varios IP previamente y que tuviesen como mínimo un test genotípico de resistencias posterior al momento basal.

3.2. TÉCNICAS DE LABORATORIO

3.2.1. PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS

3.2.1.1. SANGRE PERIFÉRICA

Las muestras de sangre utilizadas en el estudio se obtuvieron por venopunción de los pacientes en tubo de vidrio seco con anticoagulante EDTA (VACUTAINER®) para la obtención de suero y se mantuvieron a temperatura ambiente. Las muestras se procesaron durante la primera hora siguiente a la extracción.

3.2.1.2. EXTRACCIÓN Y PROCESAMIENTO DEL SUERO

Las muestras de sangre se centrifugaron durante 10 minutos a 1200 g. Una vez obtenido el suero, éste se congeló inmediatamente para su conservación a -70° C.

3.2.2. DETECCIÓN DE ANTICUERPOS ANTI-VIH

La determinación de anticuerpos anti-VIH en el plasma se realizó mediante un equipo comercial (New Lav Blot I, Sanofi Pasteur), destinado a la detección de estos anticuerpos por inmunotransferencia (Western-Blot)²⁸⁵.

3.2.2.1. EXTRACCIÓN Y PROCESAMIENTO DEL PLASMA Y DE LAS CÉLULAS MONONUCLEARES DE SANGRE PERIFÉRICA

La sangre se depositó en tubos de 10 ml, con Ficoll-Hypaque (Pharmacia, Uppsala, Suecia). Los tubos se centrifugaron a 800 g durante 30 minutos a 24° C y tras ello se recogió el plasma, que se congeló directamente a -70° C, y la banda correspondiente a las CMSP, las cuales se lavaron con medio RPMI 1640 (Seromed, Biochrom) y finalmente se resuspendieron en medio de cultivo RPMI suplementado con suero fetal de ternera previamente testado (FCS) (Seromed, Biochrom), L-glutamina 2mM (Flow), 50 U/ml de penicilina (Flow) y 50 U/ml de estreptomycin (Flow).

3.2.3. CUANTIFICACIÓN DE RNA VIRAL POR TRANSCRIPCIÓN INVERSA Y REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA

Los valores de RNA viral en el plasma de los pacientes pediátricos se cuantificaron usando un ensayo comercial (Amplicor-HIV MonitorTM Test, Roche Diagnostic System), aprobado por la Federal Drug Administration (FDA) para monitorización de CV en Mayo de 1996²⁸⁶.

3.2.4. ANÁLISIS DEL GENOTIPO DE LOS AISLADOS DEL VIH

Para el genotipo viral basal, se recogió plasma entre el mes -6 (6 meses antes del inicio del tratamiento con LPV/r) si los pacientes mantenían el mismo tratamiento y el

mes 6 si la CV plasmática fue $> 5 \text{ Log}_{10}$ tras el inicio del TARGA con LPV/r. Las resistencias genotípicas del VIH-1 a fármacos se determinaron a partir del RNA viral circulante en plasma, usando el kit comercial TruGene HIV-1 Resistance Kit (Visible Genetics, Toronto, Canadá). Se analizó el gen completo de la proteasa del VIH-1 mediante el software Gene Objects software (Visible Genetics). Las resistencias a fármacos se definieron de acuerdo a la declaración consenso de IAS-USA^{233, 287}.

3.2.5. INTERPRETACIÓN DEL GENOTIPO DE LOS AISLADOS DEL VIH

Para obtener una interpretación de los resultados de los test genotípicos de los pacientes se introdujeron las mutaciones halladas en los test de resistencias genotípicos realizados en el momento basal y durante el seguimiento en la base de datos de la Universidad de Stanford. Mediante el programa *HIVdb:Genotypic Resistance Interpretation Algorithm* se obtuvo una aproximación a la susceptibilidad esperada de cada ARV de la pauta TARGA que siguieron los pacientes²⁴³.

3.2.6. CITOMETRÍA DE FLUJO

3.2.6.1. CUANTIFICACIÓN DE CÉLULAS CD4⁺ Y CD8⁺ EN SANGRE TOTAL

Las células T en sangre periférica fueron cuantificadas por inmunofluorescencia directa, usando anticuerpos monoclonales de la serie T. La adquisición se llevó a cabo en un citómetro FACScan (Becton-Dickinson, San José C.A., EE.UU.)²⁸⁸ usando el programa de adquisición Lysis II (Becton-Dickinson, San José C.A., EE.UU.) dentro de las dos horas siguientes a la tinción de las células.

3.2.6.2. CUANTIFICACIÓN DE SUBPOBLACIONES DE CÉLULAS T CD4⁺ Y T CD8⁺

Se realizó el análisis de las subpoblaciones de células T por citometría de flujo, usando la técnica de marcaje en tres colores en sangre total, lisado y lavado. La adquisición se llevó a cabo en un citómetro FACScan (Becton-Dickinson) usando el programa de adquisición Lysis II (Becton-Dickinson) dentro de las dos horas siguientes a la tinción de las células. Los parámetros óptimos para la adquisición (sensibilidad del detector, amplificación del detector, compensación) se determinaron usando el reactivo Calibrite (Becton-Dickinson) y el programa AutoComp (Becton-Dickinson) de forma periódica. Se adquirieron 5000 eventos usando una puerta de adquisición para células T CD4⁺ y otra para CD8⁺. Dicha puerta se definió usando los parámetros de baja complejidad y alta expresión de CD4 o CD8^{289, 290}. El análisis de los datos se realizó con el programa de análisis Lysis II (Becton-Dickinson). Se usaron los controles isotópicos adecuados (IgG1-FITC; IgG1-PE) para valorar la tinción inespecífica, la cual

se sustrajo del resto de los resultados. También medimos la intensidad relativa de fluorescencia (IRF) de HLA-DR y CD38 como la media de IRF usando histogramas simples sin cursor.

3.3. TÉCNICAS ESTADÍSTICAS

3.3.1. PROCESAMIENTO DE LOS DATOS

Los valores de células T CD4⁺ y T CD8⁺ se expresaron en porcentaje y en células/mm³. La CV se transformó en log₁₀ para normalizar su distribución.

3.3.2. TABLAS DE CONTINGENCIA

La prueba ji-cuadrado de Pearson mide la asociación entre dos variables cualitativas o categóricas. Se contrasta si ambas variables son o no independientes. El test exacto de Fisher es una variante de la prueba ji-cuadrado de Pearson y es una alternativa cuando el tamaño muestral es pequeño²⁹¹.

3.3.3. ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA

Es un conjunto de técnicas estadísticas apropiadas para estudios en los que un sujeto es seguido durante un periodo de tiempo en el cual se observa la presencia o ausencia de un determinado suceso. Su objetivo es describir las probabilidades de ocurrencia y la evolución de la tasa de incidencia del suceso a lo largo del seguimiento²⁹².

Método de Kaplan-Meier se utiliza para realizar curvas de supervivencia. Dada una variable dependiente cuyos valores corresponden al tiempo transcurrido hasta que ocurre un determinado suceso final, el objetivo de este análisis, es estimar en función del tiempo, la probabilidad de que ocurra dicho suceso. Su representación gráfica consiste en situar en el eje de abscisas el tiempo de seguimiento y en el de ordenadas la probabilidad de que no aparezca ó aparezca el suceso estudiado. Permite seguir la evolución de un grupo de pacientes desde un estado inicial hasta uno final. Las diferencias entre los grupos formados se determinaron por el análisis de Log-rank (Mantel-Haenzel) con un nivel de significación inferior al 0,05.

El análisis de regresión de Cox consiste en obtener una función lineal de variables independientes (cuantitativas o cualitativas) que permita estimar en función del tiempo, la probabilidad de que ocurra un suceso que viene determinado por la variable dependiente.

3.3.4. PRUEBAS PARAMÉTRICAS

3.3.4.1. COEFICIENTE DE CORRELACIÓN LINEAL DE PEARSON (R)

Este coeficiente permite estudiar la fuerza de asociación lineal entre dos variables. Dicha fuerza será nula (asociación lineal inexistente) si $r = 0$, aumentando a medida que el valor de r se aproxima a 1 o a -1. El signo del coeficiente r indica el sentido de la asociación, siendo directa cuando el signo es positivo e inversa cuando es negativo.²⁹³

3.3.4.2. ANÁLISIS DE LA VARIANZA

La comparación de las medias de cada variable en los distintos grupos estudiados se efectuó mediante el análisis de la varianza (ANOVA). Este análisis estudia la variabilidad entre los grupos y dentro de los grupos. La F Snedecor detectará si las medias de al menos un grupo difiere del resto²⁹¹.

El análisis de la varianza exige el cumplimiento de una serie de condiciones para poder ser aplicada: La variable ha de seguir una distribución normal en los grupos estudiados y las varianzas han de ser homogéneas entre los grupos. La normalidad de cada una de las variables se comprobó previamente mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov; la homogeneidad de las varianzas se comprobó mediante la prueba de Levene.

3.3.4.3. REGRESIÓN LOGÍSTICA

Es una técnica multivariante adecuada si la variable dependiente es dicotómica, pudiendo ser las variables independientes de cualquier naturaleza (dicotómica, ordinal, continua o nominal). El exponencial de los coeficientes de la regresión logística, pueden ser directamente interpretados como *odds ratios*.

3.3.5. PRUEBAS NO PARAMÉTRICAS

Las pruebas estadísticas no paramétricas se usaron cuando la muestra fue pequeña o la distribución de los datos en la población fue libre (los datos no procedían de poblaciones normales y con igualdad de varianzas)^{293, 294}.

3.3.5.1. “H” DE KRUSKAL-WALLIS

Análogo no paramétrico del análisis de varianza de un factor. Contrasta si varias muestras independientes proceden de la misma población. Esta prueba estadística compara diferencias a nivel global entre los distintos grupos estudiados. Cuando las diferencias fueron significativas, se utilizó la prueba “U” de Mann-Whitney para comprobar cuáles eran los grupos que diferían significativamente.

3.3.5.2. “U” DE MANN-WHITNEY

Contrasta si dos muestras de dos subpoblaciones tienen la misma distribución. Las observaciones de ambos grupos se combinan y clasifican con respecto al rango promedio asignado en caso de producirse empates. Si la posición de las poblaciones es idéntica, deberán mezclarse aleatoriamente los rangos en ambas muestras.

3.3.5.3. ANÁLISIS DE CORRELACIÓN DE SPEARMAN

Variante de coeficiente de correlación de Pearson. Es una medida de asociación que se calcula a partir de la asignación de rangos a los valores ordenados. Dicha asociación será nula si $R = 0$, aumentando a medida que el valor de R se aproxima a 1 ó a -1. El signo del coeficiente R indica el sentido de la asociación, siendo directa cuando el signo es positivo e inverso cuando es negativo.

4. RESULTADOS

4.1. DESCRIPCIÓN DEL CURSO CLÍNICO DE LA INFECCIÓN EN LA PRÁCTICA CLÍNICA HABITUAL EN UNA COHORTE DE NIÑOS INFECTADOS POR EL VIH-1 CON TARGA QUE CONTENGA LPV/R DURANTE AL MENOS 12 MESES

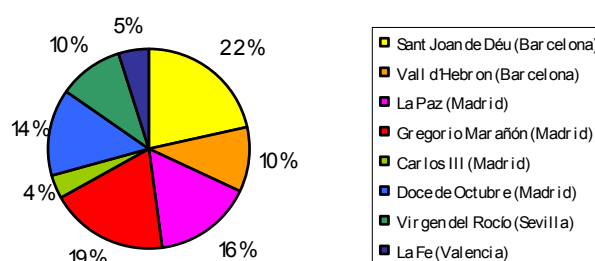
Se realizó un estudio descriptivo, observacional y de seguimiento, en una cohorte de 77 niños infectados por el VIH-1 seguidos en 8 hospitales terciarios españoles, que habían comenzado desde el 01/06/2000 hasta el 31/12/2003, una pauta TARGA que incluyera LPV/r y que tuvieran un seguimiento mínimo de 12 meses.

El estudio se inició el 01/06/2000 y finalizó el 31/10/2006. Los pacientes formaron parte del estudio durante todo el tiempo en que mantuvieron el tratamiento con LPV/r. El tiempo medio que los pacientes pertenecieron al estudio fue de 49,4 meses (DT: 14,2) con un tiempo mínimo de 12,4 meses y un máximo de 70,8 meses.

La edad media de los pacientes al inicio del estudio fue de 9,4 años (DT: 3,9 años). La distribución por sexos fue; 62,3 % niños y 37,7% niñas. La vía de contagio de la infección VIH en 75 pacientes fue la vía vertical y en 2 pacientes la infección VIH fue adquirida en los primeros años de vida. En un paciente hemofílico, la infección por el VIH ocurrió tras una transfusión por hemoderivados siendo diagnosticada a los 2,5 años, y en el otro paciente por un contacto con material inyectable contaminado a los 3 meses de vida.

La edad media global del diagnóstico de la infección VIH fue de 1,9 años (DT: 2,9 años). Los pacientes procedían de 8 hospitales terciarios españoles donde existía una consulta especializada en la infección VIH pediátrica (Figura 8).

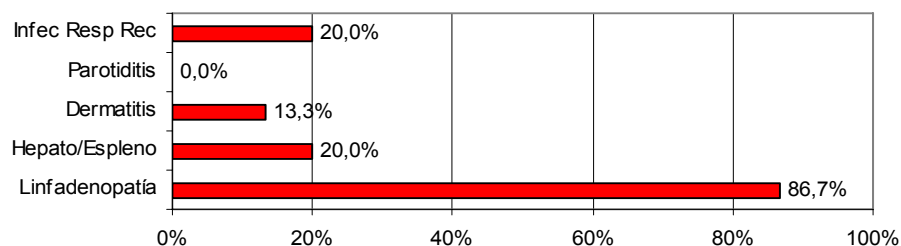
Figura 8. Distribución de los pacientes según su hospital de procedencia.



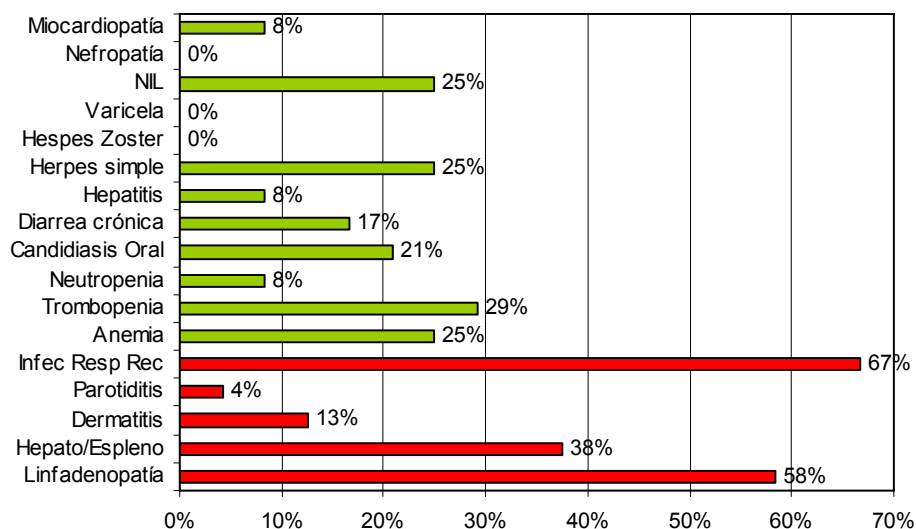
Atendiendo a los diferentes estadios clínicos e inmunológicos según el CDC⁶⁰ la distribución de los pacientes incluidos en el estudio era; estadio A: 19,5%; B: 31,2% y C: 49,4% y según la clasificación inmunológica; 1: 16,9%, 2: 33,8% y 3: 49,4%. Al analizar los diferentes eventos clínicos que definían las categorías clínicas de los pacientes se obtuvieron los resultados mostrados en la Figura 9.

Figura 9. Distribución de los diferentes eventos clínicos que constituyen las categorías clínicas de la clasificación clínico-inmunológica del CDC en la cohorte de 77 niños infectados por el VIH con TARGA que incluye LPV/r.

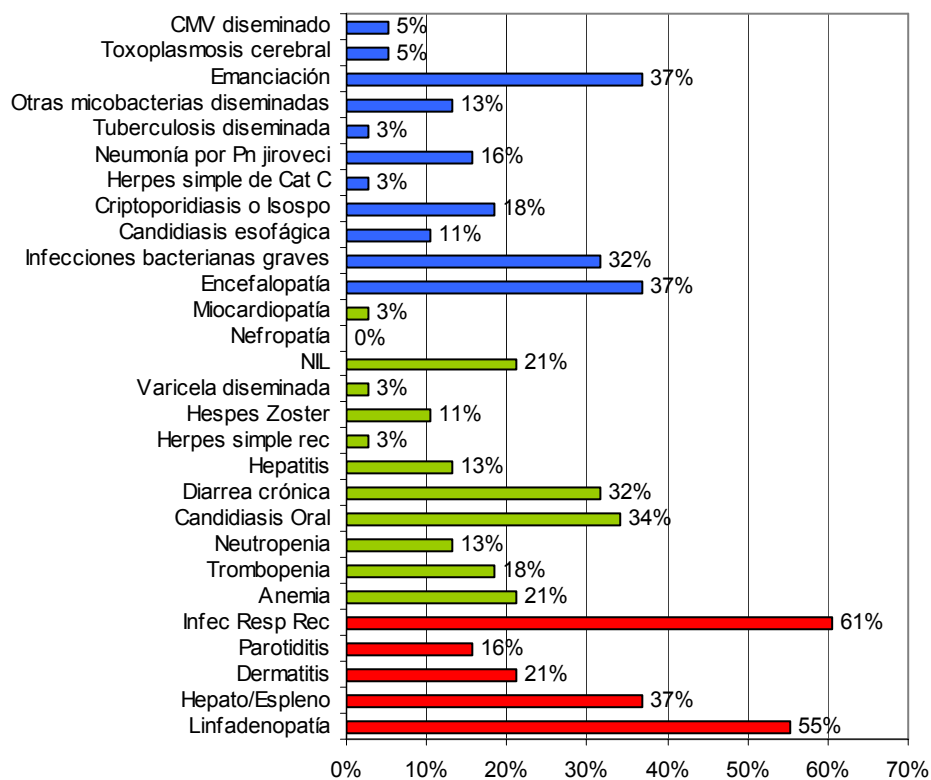
A



B



C



(CMV: citomegalovirus; NIL: neumonía intersticial linfocítica)

La Tabla 1 resume las patologías que, junto a la infección VIH, presentaban la cohorte de niños incluida en el estudio.

Tabla 1. Patologías concomitantes a la infección VIH en la cohorte de 77 niños tratados con TARGA que incluye LPV/r.

Patología	Nº
Infección por el VHC	5
Infección por el VHB	1
Comunicación interauricular tipo <i>ostium secundum</i>	2
Coartación de aorta	1
Miocardopatía dilatada en tratamiento con Furosemida, Aldactone y Digoxina	1
Aneurisma carótido-cavernoso intervenido	1
Enfermedad celíaca	1
Enfermedad inflamatoria intestinal (fístulas peri anales)	1
Artritis psorásica en tratamiento con Naproxeno	1
Hemofilia	1
Toxoplasmosis congénita con coriorretinitis	1
Asma intrínseco en tratamiento con Atrovent y Singulair	1
Bronquitis espástica sin tratamiento de base	1
Síndrome de hiperexcitabilidad y déficit de atención en tratamiento con Risperdal	1
Crisis convulsivas asociadas a encefalopatía VIH en tratamiento con Depakine	1
Paraparesia espástica asociada a encefalopatía VIH en tratamiento con toxina botulínica	1

(VHC: virus hepatitis C; VHB: virus hepatitis B; VIH: virus de la inmunodeficiencia humana)

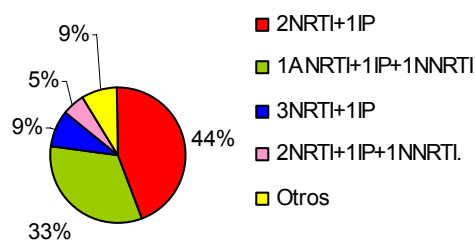
El tiempo medio de tratamiento antirretroviral previo de los pacientes incluidos en el estudio era de 73,9 meses (DT: 33,5 meses). El tiempo medio previo con NRTI era de 71,9 meses (DT: 33,4 meses), con NNRTI 13,3 meses (DT: 13,7 meses) y con IP 36,9 meses (DT: 15,3 meses). El número medio de IP previos que los pacientes habían tomado era de 2,2 (DT: 1,1). La distribución de los pacientes según el número de líneas TARGA previas al inicio del estudio era: ninguna 3,9%; 1 línea TARGA previa 24,7%; 2 líneas 24,7% y 3 o más líneas 46,8%.

Los diferentes tipos de TARGA que se emplearon al inicio del estudio se muestran en la Figura 10-A. La frecuencia de los diferentes fármacos que junto a LPV/r constituían la pauta de inicio se representa en la Figura 10-B. El número de fármacos nuevos (fármacos que nunca antes del comienzo del estudio hubieran tomado los pacientes) que formaban parte de las combinaciones TARGA de inicio era: 33,8% de los pacientes tomaron un NRTI nuevo, 26,0% tomaron un NNRTI nuevo y 2,6% un IP

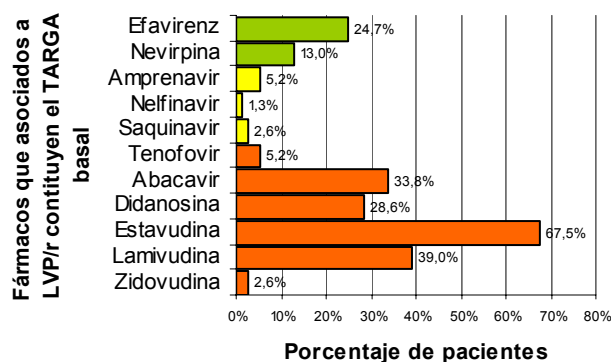
nuevo (Figura 10-C). La combinación de fármacos que asociados a LPV/r constituían la pauta TARGA basal se resume en la Tabla 2.

Figura 10. Características del TARGA en el momento de inclusión en el estudio en la cohorte de 77 niños infectados por el VIH (A): Frecuencia de los diferentes tipos de TARGA empleados al inicio del estudio. (B): Fármacos empleados en el TARGA inicial y su frecuencia. (C): Fármacos nuevos empleados en el TARGA inicial y su frecuencia.

A



B



C

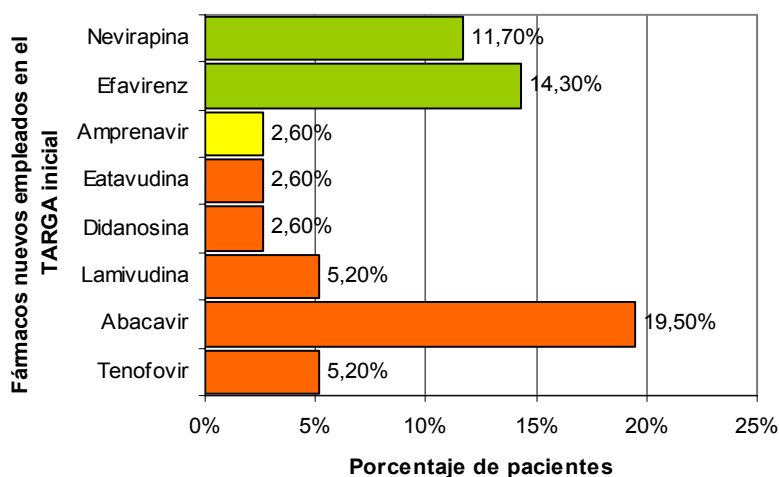


Tabla 2. Combinaciones de fármacos que constituían la línea de TARGA en el momento de inclusión en el estudio y su frecuencia en la cohorte de 77 niños infectados por el VIH con TARGA que contiene LPV/r.

Fármacos	%	Fármacos	%
3TC d4T LPV/r	16,9	3TC ABV SQV APV LPV/r	1,3
d4T ddl LPV/r	14,3	3TC d4T ABV SQV LPV/r	1,3
d4T ABV LPV/r	7,8	3TC d4T ddl LPV/r	1,3
3TC d4T ABV LPV/r	6,5	ddl EFV TDF LPV/r	1,3
d4T EFV LPV/r	6,5	d4T APV EFV LPV/r	1,3
ddl EFV LPV/r	6,5	AZT 3TC EFV LPV/r	1,3
ABV EFV LPV/r	5,2	d4T APV NVP LPV/r	1,3
3TC NVP LPV/r	3,9	NFV TDF LPV/r	1,3
d4T ABV NVP LPV/r	2,6	d4T APV LPV/r	1,3
d4T ddl ABV LPV/r	2,6	d4T TDF LPV/r	1,3
ABV NVP LPV/r	2,6	3TC TDF LPV/r	1,3
d4T NVP LPV/r	2,6	AZT ddl LPV/r	1,3
3TC EFV LPV/r	2,6	ddl ABV LPV/r	1,3
3TC ABV LPV/r	2,6		

(3TC: Lamivudina; d4T: Estavudina; LPV/r: Lopinavir-Ritonavir; ddl : Didanosina; ABC: Abacavir; EFV: Efavirenz; NVP: Nevirapina; SQV: Saquinavir; APV: Amprenavir; TDF: Tenofovir).

La distribución de los pacientes según la dosis basal de LPV/r era: 4,7% de los pacientes recibían <230 mg LPV/m²/12h, 42,2% tomaban entre 230-300 mg LPV/m²/12h, 48,4% recibían entre 300-400 mg LPV/m²/12h y 4,7% tomaban >400 mg LPV/m²/12h.

La evaluación del estado nutricional de los pacientes en el momento basal se analizó mediante el cálculo del Z score de peso y talla y el índice de masa corporal (IMC). La media del Z score de peso y talla de los pacientes era de: -0,5Kg (DT: 0,1Kg) y -0,7m (DT: 1,4m). La media del IMC, al inicio del estudio, fue 16,9 (DT: 2,7).

Un 93,5% de los pacientes iniciaron el TARGA con LPV/r tras un fracaso terapéutico a una línea de TARGA previa. En 5 pacientes (6,5%) el TARGA con LPV/r, se inició por un motivo diferente; 4 pacientes (5,2%) modificaron el régimen previo por efectos secundarios (previamente 3 pacientes habían tomado NFV y una paciente RTV con trastornos digestivos). Además, una paciente *naïve* que comenzó el TARGA con LPV/r también fue incluida en el estudio.

Los valores de las determinaciones en el momento basal de los marcadores analíticos analizados en el estudio se resumen en la Tabla 3.

Tabla 3. Valores analíticos en el momento basal de la cohorte de 77 niños infectados por el VIH con TARGA que incluye LPV/r.

Valor analítico	Media (DT)	Valor analítico	Media (DT)
Hematíes ($\times 10^6/\mu\text{l}$)	4,2 (0,5)	Lipasa (UI/L)	56,0 (47,8)
Hemoglobina (gr/dl)	12,52 (1,2)	GOT (UI/L)	39,2 (26,2)
Hematocrito (%)	36,7 (5,1)	GPT (UI/L)	32,6 (32,6)
Leucocitos ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	6734,6 (2074,9)	GGT (UI/L)	37,6 (43,4)
% Linfocitos (%)	41,0 (12,8)	Colesterol (mg/dl)	178,1 (39,7)
% Neutrófilos (%)	45,9 (14,2)	Col-HDL (mg/dl)	45,5 (12,3)
% Monocitos (%)	8,6 (3,1)	Col-LDL (mg/dl)	100,1 (34,6)
% Eosinófilos (%)	2,9 (2,6)	Triglicéridos (mg/dl)	140,7 (101,1)
Plaquetas ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	260,6 (90,7)	Fosfatasa alcalina (UI/L)	594,8 (304,0)
Glucosa (mg/dl)	85,6 (8,8)	LDH (UI/L)	419,1 (165,2)
Urea (mg/dl)	29,1 (7,8)	% células T CD4+	22, 2 (11,1)
Creatinina (mg/dl)	0,6 (0,2)	% células T CD8+	46,3 (13,5)
Amilasa (UI/L)	125,7 (95,1)	Log CV (\log_{10})	4,6 (0,9)

(UI: unidades internacionales; GOT: Transaminasa glutámico oxalacética; GPT: Transaminasa glutámico pirúvica; GGT: Gamma-glutamil transpeptidasa; Col-HDL: Colesterol unido a lipoproteína de alta densidad; Col-LDL: Colesterol unido a lipoproteína de baja densidad; LDH: Lactato deshidrogenasa; Log CV: Logaritmo de carga viral).

La evolución de los parámetros analíticos medidos durante los primeros 60 meses del estudio se representa en la Figura 11. En el total de la población, durante los 60 primeros meses de seguimiento, hubo un descenso inicial brusco en el nivel de carga viral en los primeros 3 meses que posteriormente se mantuvo estable entre 3 y 3,5

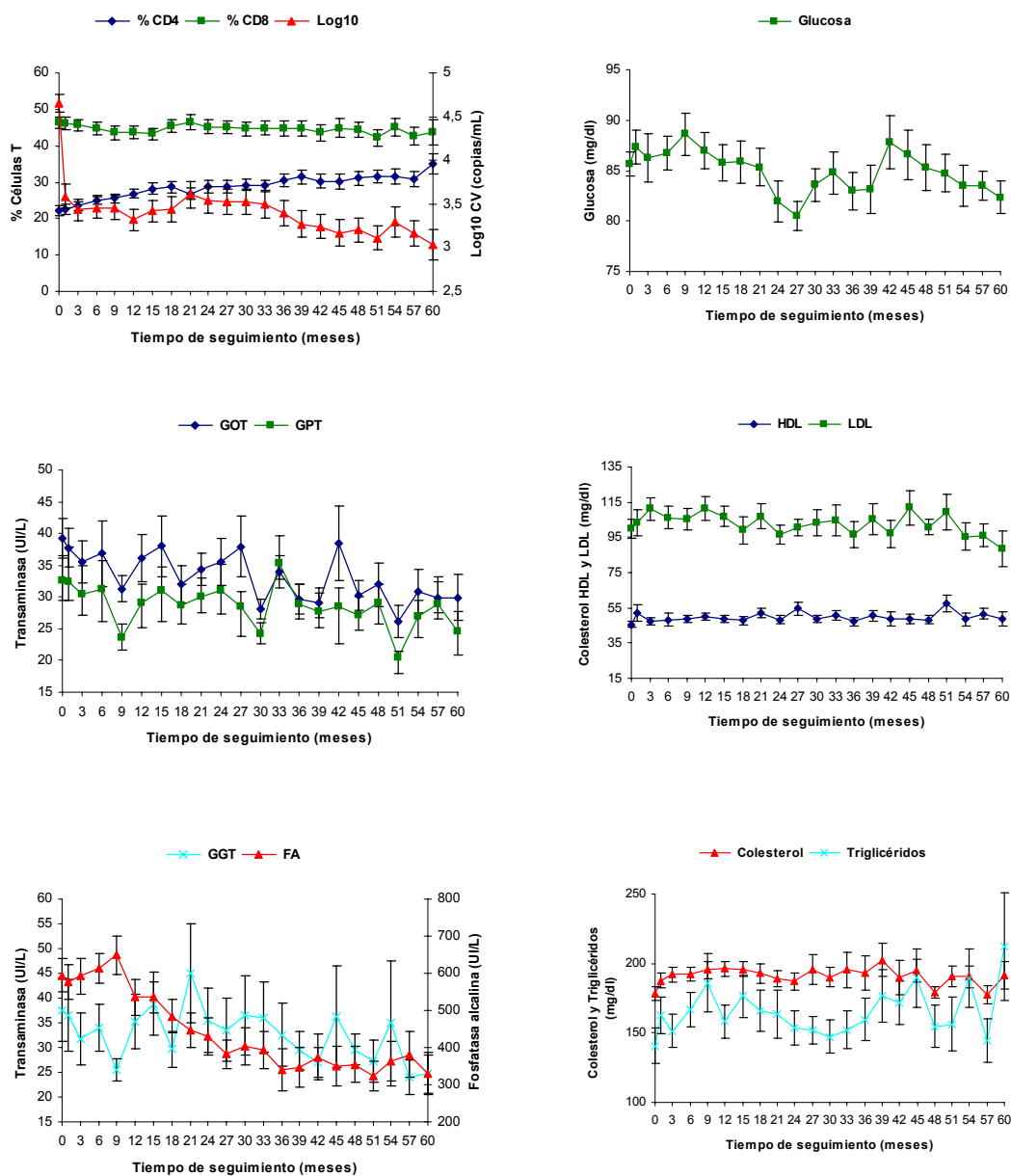
Log₁₀ CV. El recuento de células T CD8+ se mantuvo relativamente constante durante el seguimiento mientras que la cifra de células T CD4+ ascendió paulatinamente durante los 60 primeros meses de seguimiento. Las cifras de GOT, GPT, GGT, glucosa, Colesterol total, Colesterol-HDL, Colesterol-LDL y triglicéridos se mantuvieron relativamente constantes durante el seguimiento. Los niveles de FA descendieron en los primeros 30 meses, manteniéndose entre 300 y 400 UI/L en la segunda mitad del seguimiento.

Un 33,3% de los pacientes tuvo cifras de colesterol ≥ 200 mg/dl en el momento de inicio del estudio. En este subgrupo de pacientes (33,3%) la mediana del nivel de colesterol fue de 216,0 mg/dl (P₂₅: 208,5- P₇₅: 223,0). A los 12 meses, un 45,3% de los niños, tenía cifras de colesterol ≥ 200 mg/dl. No obstante, la mediana de colesterol entre aquellos niños que tenían cifras ≥ 200 mg/dl a los 12 meses, fue de 228,5 mg/dl (P₂₅: 213,0- P₇₅: 247,0). A los 48 meses un 18,2% de los pacientes tenían niveles de colesterol ≥ 200 mg/dl. En este 18% de los pacientes, la mediana de colesterol fue de 210,5 mg/dl (P₂₅: 203,5- P₇₅: 224,7).

En el momento basal 31,7% de los niños tenían niveles de triglicéridos >150 mg/dl. En este subgrupo de pacientes (31,7%) la mediana del nivel de triglicéridos fue de 219,0 mg/dl (P₂₅:190,5- P₇₅:352,7). A los 12 meses del seguimiento, 36,0% de los pacientes tenían cifras de triglicéridos >150 mg/dl. En este subgrupo de pacientes, la mediana de triglicéridos fue de 242,0 mg/dl (P₂₅: 189,2- P₇₅: 309,2). A los 48 meses de seguimiento 39,4% de los pacientes tenían cifras de triglicéridos >150 mg/dl. En este 39,4% de los pacientes, la mediana de triglicéridos fue de 218,0 mg/dl (P₂₅: 184,5- P₇₅: 284,0).

Se analizaron los cambios en el resto de fármacos que junto a LPV/r componían el TARGA de los pacientes durante el seguimiento (Tabla 4). El análisis de los cambios que en el total de la población ocurrieron en cada año del seguimiento se resume en la Tabla 4-A, donde se expresa el porcentaje de pacientes que experimentaron uno o más cambios distribuidos según los años del seguimiento. También se consideró el número de pacientes con cambios acumulados en el tratamiento que ocurrían en cada año de seguimiento (Tabla 4-B).

Figura 11. Evolución de los parámetros analíticos durante el seguimiento en la cohorte de 77 niños infectados por el VIH con TARGA que contiene LPV/r.



(UI: unidades internacionales; GOT: Transaminasa glutámico oxalacética; GPT: Transaminasa glutámico pirúvica; GGT: Gamma-glutamyl transpeptidasa; Col-HDL: Colesterol unido a lipoproteína de alta densidad; Col-LDL: Colesterol unido a lipoproteína de baja densidad; FA: Fosfatasa alcalina; Log CV: Logaritmo de carga viral).

Tabla 4. Cambios en las pautas del TARGA durante el seguimiento en la cohorte de 77 niños con TARGA que incluye LPV/r. Tabla 4-A: Porcentaje de pacientes que experimentan cambios en el tratamiento según el año de seguimiento. Tabla 4-B: Porcentaje de pacientes con cambios acumulados en el tratamiento según transcurre el seguimiento.

(Tabla 4-A)	<1 año (n= 77)	1-2 años (n= 77)	2-3 años (n= 74)	3-4 años (n=64)	4-5 años (n=49)	5-6 años (n= 32)
% de pacientes con 0 cambios	89,7%	83,3%	77,3%	69,2%	78,0%	100,0%
% de pacientes con 1 cambio	6,4%	9,0%	20,0%	26,2%	16,0%	0,0%
% de pacientes con 2 Cambios	3,8%	5,1%	1,3%	4,6%	6,0%	0,0%
% pacientes con ≥ 3 Cambios	0,0%	2,6%	1,3%	0,0%	0,0%	0,0%
(Tabla 4-B)	<1 año (n= 77)	1-2 años (n= 77)	2-3 años (n= 74)	3-4 años (n=64)	4-5 años (n=49)	5-6 años (n= 32)
% de pacientes con 0 cambios acumulados	89,7%	76,9%	68,0%	56,9%	52,0%	63,6%
% de pacientes con 1 cambio acumulados	6,4%	14,1%	14,7%	20,0%	20,0%	12,1%
% de pacientes con 2 Cambios acumulados	3,8%	3,8%	9,3%	15,4%	20,0%	18,2%
% pacientes con ≥ 3 Cambios acumulados	0,0%	5,1%	8,0%	7,7%	8,0%	6,1%

Durante el seguimiento se monitorizaron a los pacientes cada 3 meses con un control clínico y analítico. Así mismo se recogieron todos los ingresos hospitalarios que sucedieron durante el seguimiento de los pacientes (Tabla 5).

Tabla 5. Ingresos hospitalarios ocurridos durante el seguimiento de la cohorte de 77 niños infectados por el VIH con TARGA que incluye LPV/r.

Motivo del ingreso	Meses de seguimiento	Nº pacientes
Intento de autólisis	39	1
Extracción de granuloma piógeno en MMII	12	1
Tratamiento con gammaglobulina por trombopenia	0, 60	1
Varicela complicada	3, 12	2
Ingreso en UCI por fallo multiorgánico	15, 27, 21, 33	4
Neumonía	12, 3, 1	3
Sinusitis maxilar con intensa cefalea	15	1
Ingreso por herida con arma de fuego	30	1
Crisis de broncoespasmos	30, 36	1
Gingivoestomatitis	33, 24	2
Tratamiento con pamidronato por osteopenia	60	1
Infección diseminada por <i>Micobacterias atípicas</i>	21	1
Cirugía ortopédica de genu flexo	54	1
Esofagitis por <i>Cándida</i>	27	1
Monitorizar adherencia	3	1
Colocación de drenajes timpánicos	57	1

(UCI: Unidad de Cuidados Intensivos)

Tras finalizar el estudio se evaluó la presencia de lipodistrofia en los pacientes según los datos recogidos en las historias clínicas. 22 de los 77 pacientes (28,6%) mostraban signos de lipodistrofia al finalizar el estudio: 22,7% leve, 40,1% moderada y 37,2% grave. No obstante solo 3 de los 77 pacientes suspendieron la mediación debido al desarrollo de lipodistrofia. En 6 de los 77 pacientes se registraron efectos adversos moderados-graves al LPV/r: 4 pacientes tuvieron diarrea grado III-IV, 1 paciente epigastralgia intensa y 1 paciente desarrollo un Síndrome de Cushing iatrogénico al recibir fluticasona por una crisis de broncoespasmo grave mientras tomaba LPV/r. Durante el estudio fallecieron 4 de los 77 pacientes cuyas características básicas se resumen en la Tabla 6.

Tabla 6. Comparación de las características básicas de los 4 niños que fallecieron en la cohorte de 77 niños infectados por el VIH que incluye LPV/r.

Características básicas		No Fallecido (%)	Si Fallecido (%)
Sexo	Niño	61,6	75,0
	Niña	38,4	25,0
Estadio clínico	A	20,5	0
	B	32,9	0
	C	46,6	100,0
Estadio Inmuno-lógico	1	17,8	0
	2	34,2	25,0
	3	47,9	75,0
Adherencia global durante el estudio	<70%	32,8	50,0
	70-90	20,9	50,0
	90-95	14,9	0
	>95	31,3	0
Dosis inicial (mg LPV/m ² /12h)	<230	4,9	0
	230-300	42,6	33,3
	300-400	47,5	66,7
	>400	4,9	0
NRTI nuevos	No	64,4	100,0
	Sí	35,6	0
IP nuevos	No	97,3	100,0
	Sí	2,7	0
NNRTI nuevos	No	74,0	75,0
	Sí	26,0	25,0

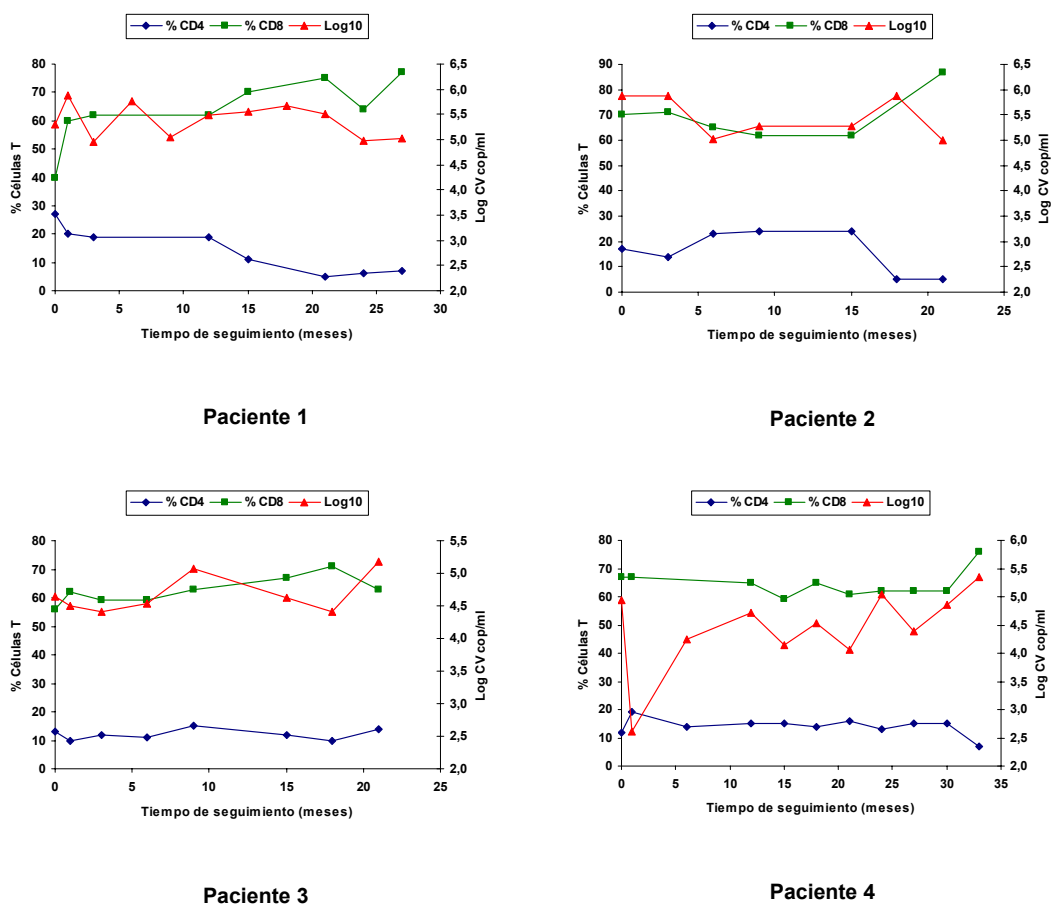
Tabla 6. Continuación de la Tabla anterior.

Características básicas*	No Fallecido	Si Fallecido
Edad al diagnóstico (años)	1,93 (2,9)	1,84 (0,2)
Edad al final del seguimiento (años)	13,52 (3,9)	13,09 (4,3)
Tiempo de seguimiento (meses)	49,94 (13,4)	27,64 (4,2)
Z score de Peso	-0,5 (1,0)	-0,9 (1,3)
Z score de Talla	-0,7 (1,4)	-1,8 (1,2)
IMC	16,94 (2,7)	17,32 (2,1)
Número de IP previos	2 (1)	4 (1)
Tiempo previo con NRTI (meses)	72,3 (33,9)	65,3 (22,6)
Tiempo previo con IP (meses)	36,8 (15,7)	38,7 (8,3)
Tiempo previo con NNRTI (meses)	13,6 (13,8)	6,5 (9,4)
% células T CD4+	22,5 (11,3)	17,3 (6,8)
% células T CD8+	46 (13)	58 (14)
Log ₁₀ CV	4,62 (0,9)	5,19 (0,5)

(Características básicas*: media y DT; LPV: Lopinavir; NRTI: Inhibidores de la Transcriptasa Inversa Análogos de Nucleósido; NNRTI: Inhibidores de la Transcriptasa Inversa No Análogos de Nucleósido; IP: Inhibidores de la Proteasa; IMC: Índice de Masa Corporal; Log CV: Logaritmo de Carga Viral)

La evolución de los marcadores inmunológicos y de la carga viral durante el tiempo que los 4 pacientes fallecidos pertenecieron al estudio se representa en la Figura 12.

Figura 12. Evolución de los marcadores inmunológicos y de la CV de los 4 pacientes fallecidos en la cohorte de 77 niños infectados por el VIH con TARGA que contiene LPV/r.



(Log CV: Logaritmo de Carga Viral)

El paciente 1 falleció a los 8 años de vida tras permanecer 27 meses en el estudio con los diagnósticos de: colecistitis aguda, síndrome febril prolongado, desnutrición extrema tipo marasmo, pancitopenia, neumonitis intersticial, encefalomielitis aguda diseminada, hepatopatía 2ª y candidiasis orofaríngea. El paciente 2 murió a los 14,5 años tras 21 meses de seguimiento por un fallo multiorgánico. La paciente 3 murió a los 11,5 años tras 21 meses de seguimiento por un fallo multiorgánico con hiperlactatemia. En este caso LPV/r se había combinado con d4T y ddl en los primeros 20 meses de seguimiento y posteriormente se había suspendido el ddl para comenzar una pauta con LPV/r, SQV, d4T y T-20 durante el último mes. El paciente 4 falleció a los 18,5 años debido a un linfoma no Hodgkin de alto grado con participación cerebral y hepática tras 33 meses de seguimiento. En ninguno de los 4 casos el fallecimiento se relacionó directamente con el uso de LPV/r.

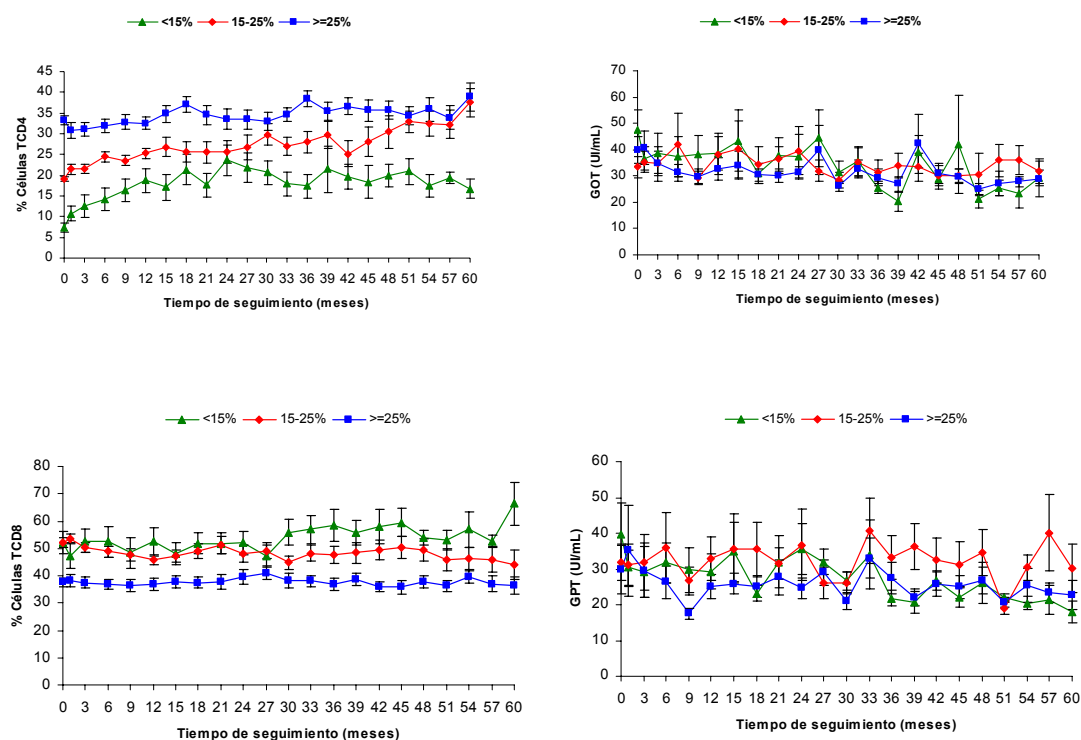
4.2. COMPARACIÓN DE LA DIFERENTE EVOLUCIÓN DE LA INFECCIÓN VIH EN NIÑOS CON TARGA QUE CONTIENE LPV/R SEGÚN SUS CARACTERÍSTICAS BÁSALES

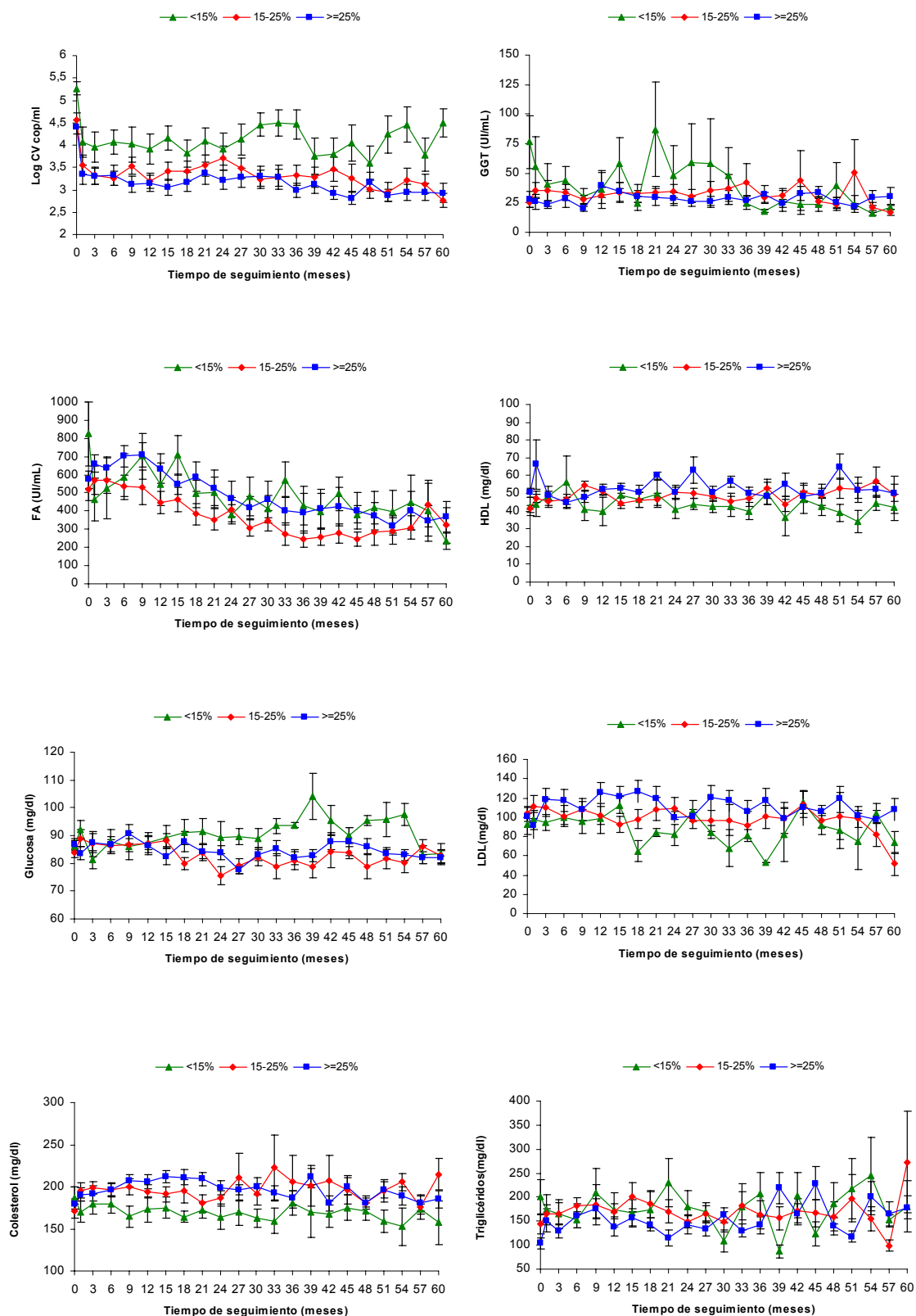
En la cohorte seguida de 77 niños infectados por el VIH, se analizó la diferente evolución clínica de los pacientes según diferentes características básicas.

4.2.1. ANÁLISIS DE LA EVOLUCIÓN DE LOS PACIENTES SEGÚN LA CIFRA DE CÉLULAS T CD4+ EN EL MOMENTO BASAL

Se agruparon a los pacientes en 3 categorías según su cifra basal de linfocitos T CD4+: <15%, entre 15-25% y > 25%. Se analizó la evolución de los diferentes marcadores analíticos durante el seguimiento (hasta los 60 meses). Los datos obtenidos se representan en la Figura 13.

Figura 13. Evolución de los marcadores analíticos según la cifra basal de células T CD4+ en la cohorte de 77 niños infectados por el VIH con TARGA que contiene LPV/r.



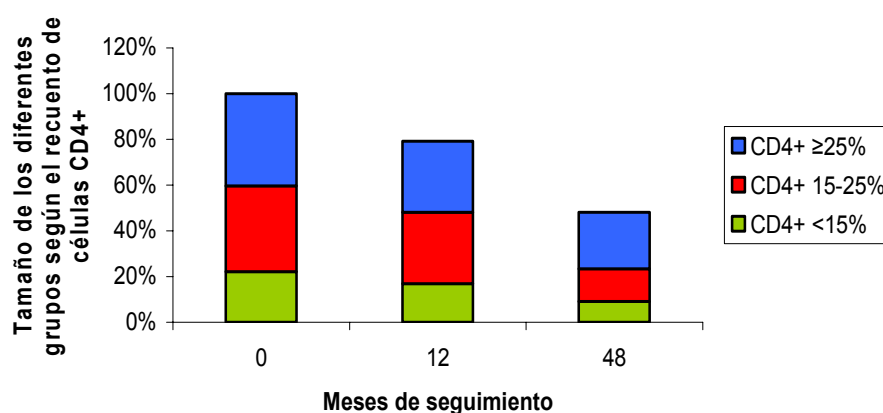


(UI: unidades internacionales; GOT: Transaminasa glutámico oxalacética; GPT: Transaminasa glutámico pirúvica; GGT: Gamma-glutamil transpeptidasa; Col-HDL: Colesterol unido a lipoproteína de alta densidad; Col-LDL: Colesterol unido a lipoproteína de baja densidad; FA: Fosfatasa alcalina; Log CV: Logaritmo de carga viral).

Cuanto menor fue la cifra de células T CD4+ basal, menor fue la recuperación inmunológica de los pacientes aunque, como se ha comentado previamente, se observó un aumento constante en el recuento de linfocitos T CD4+ durante el seguimiento en toda la población. El recuento de linfocitos T CD8+ se mantuvo relativamente estable entre los grupos aunque en los niños con linfocitos T CD4+ basales más bajos hubo un ligero ascenso en la 2ª mitad del seguimiento coincidiendo con una estabilización en la cifra de linfocitos T CD4+. Aunque en todos los pacientes se observó un descenso brusco inicial de la carga viral, cuanto mayor fue la cifra basal de linfocitos T CD4+ mayor era la supresión inmunológica alcanzada por los pacientes. No existieron diferencias significativas en las variaciones del resto de parámetros medidos durante el estudio según el recuento basal de células T CD4+.

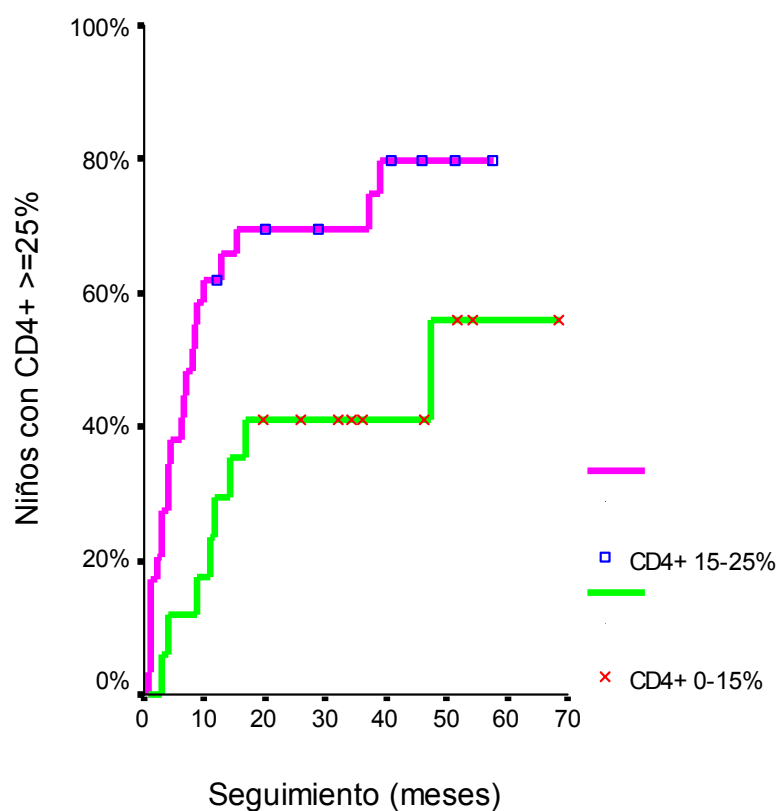
El análisis de la distribución de los pacientes según su recuento de células T CD4+ en el momento basal, a los 12 meses y a los 48 meses se representa en la Figura 14, donde se aprecia que el porcentaje de pacientes con linfocitos T CD4+ < 25% disminuyó a lo largo del seguimiento.

Figura 14. Distribución de los pacientes según el grupo al que pertenecieran teniendo en cuenta su recuento de células T CD4+ en el momento basal (n= 77), a los 12 meses (n= 61) y 48 meses (n= 37).



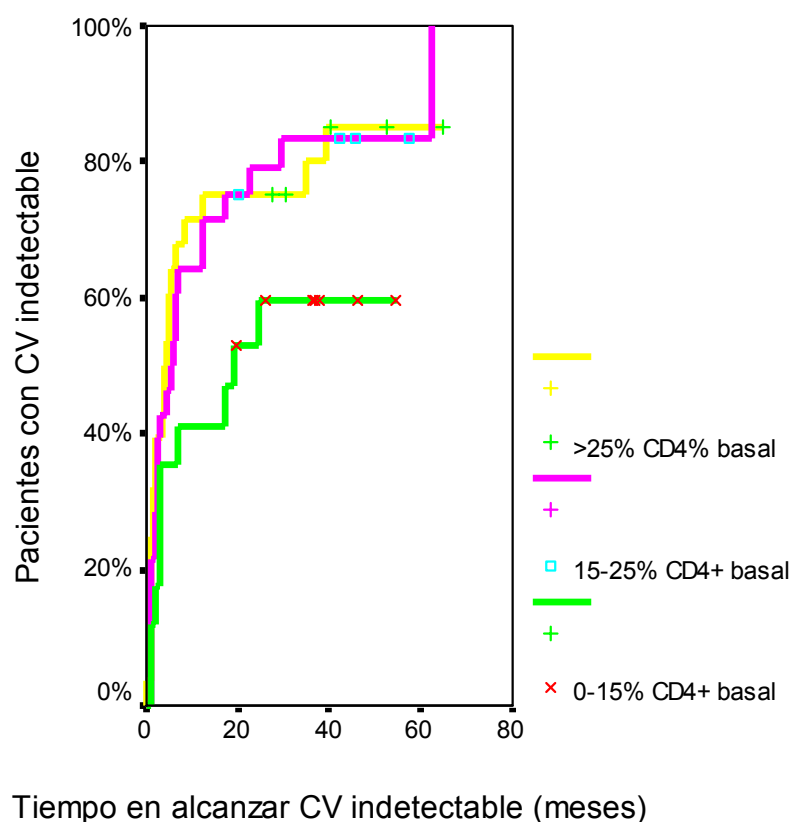
En el grupo de pacientes que tenían < 25% de células T CD4+ al comenzar el estudio se determinó en que momento alcanzaban dicho umbral durante el seguimiento. La mediana de tiempo en el que los grupos con recuento de linfocitos T CD4+ <25% tenía $\geq 25\%$ era de 11,7 meses (IC: 4,7-18,7). Al considerar exclusivamente el grupo de pacientes con linfocitos T CD4+ basales <15% la mediana de tiempo en alcanzar $\geq 25\%$ era de 47,4 meses (IC: 0-111) y en el grupo de pacientes con recuentos de células T CD4+ comprendidos entre 15-25% era de 8,2 meses (IC: 4,6-11,7). Las diferencias en los tiempos obtenidos en ambos grupos de pacientes fueron estadísticamente significativas ($p= 0,019$) (Figura 15).

Figura 15. Curva de Kaplan-Meier para analizar el tiempo en alcanzar $CD4 \geq 25\%$ según la cifra basal de linfocitos T $CD4+$ en la cohorte de 77 niños infectados por el VIH con TARGA que contiene LPV/r.



AL analizar la influencia de la cifra de células T $CD4+$ basales en la supresión de la carga viral se observó que la mediana de tiempo en alcanzar CV indetectable (< 400 copias/ml) en el conjunto de la población fue de 5,2 meses (IC: 2,84-7,62). Al tener en cuenta la cifra basal del recuento de células T $CD4+$, en el grupo con $<15\%$ la mediana de tiempo en alcanzar CV indetectable fue de 19,2 meses (IC: 0-42,1) En el grupo con una cifra basal de células T $CD4+$ entre 15-25% la mediana de tiempo fue de 5,2 meses (IC: 0,7-9,7) y en el grupo con recuentos basales $>25\%$ la mediana de tiempo fue de 3,9 meses (IC: 1,8-6,1). Las diferencias entre ambos grupos no fueron estadísticamente significativas; entre el grupo con células T $CD4+$ $<15\%$ y el grupo con recuentos entre 15-25% ($p= 0,083$) y entre el grupo con células T $CD4+$ $<15\%$ y el grupo con $CD4+$ $>25\%$ ($p= 0,085$) (Figura 16).

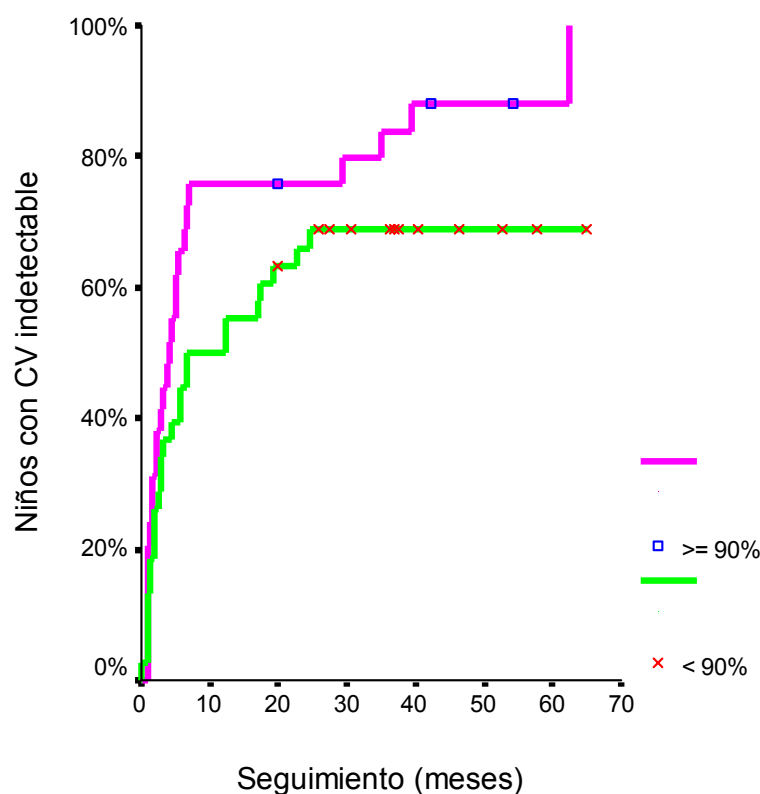
Figura 16. Curva de Kaplan-Meier para analizar el tiempo en alcanzar CV indetectable según la cifra basal de linfocitos T CD4+ en la cohorte seguida de 77 niños infectados por el VIH con TARGA que incluye LPV/r.



4.2.2. ANÁLISIS DE LA EVOLUCIÓN VIROLÓGICA DE LOS PACIENTES SEGÚN LA ADHERENCIA AL TARGA

La adherencia global durante el estudio en el total de los pacientes fue: 33,8% de los 77 pacientes tuvieron una adherencia mala (tomaron < 70% de las dosis prescritas), 22,5% regular (tomaron entre 70-90% de las dosis prescritas), 14,1% buena (tomaron 90-95% de las dosis prescritas) y 29,6% muy buena (tomaron más de un 95% de las dosis). La influencia que la adherencia global al tratamiento tuvo a nivel virológico en el momento de alcanzar una carga viral indetectable se resume en la Figura 17 observando que en el total de pacientes que mantuvieron <90% de adherencia durante el seguimiento la mediana de tiempo para alcanzar CV indetectable fue de 6,6 meses (IC: 0-16,6) y en el grupo que tomó >90% de las dosis prescritas durante el estudio la mediana de tiempo fue de 3,9 meses (IC: 1,6-6,2). No obstante las diferencias entre ellos no fueron estadísticamente significativas ($p=0,066$).

Figura 17. Curva de Kaplan-Meier para analizar el momento en el que se alcanza CV indetectable según la adherencia al tratamiento (>90% ó < 90%) en la cohorte seguida de 77 niños infectados por el VIH con TARGA que incluye LPV/r.



4.2.3. ANÁLISIS DE LA EVOLUCIÓN DE LOS PACIENTES CON COINFECCIÓN POR EL VHC

Entre los 77 pacientes de la cohorte, 5 niños estaban coinfectados por el VHC (4 por vía vertical y 1 niño hemofílico por transfusión de hemoderivados). Las características básales de estos cinco niños se resumen en la Tabla 7. Se dispuso del genotipo del VHC en 4 niños; 2 tenían el genotipo 3, 1 el genotipo 2 y 1 paciente el 1. La evolución de los parámetros analíticos monitorizados en el estudio se resume en la Figura 18. Ningún paciente coinfectado por el VHC experimentó algún efecto adverso al LPV/r durante la evolución y mantuvieron durante todo el seguimiento la misma pauta TARGA sin precisar ningún cambio. Los cinco pacientes continuaron el tratamiento con LPV/r al finalizar el estudio con un tiempo medio de seguimiento de 56,7 meses (DT: 4,4 meses) frente a los 72 pacientes restantes, que tuvieron un tiempo medio de seguimiento de 48,2 meses (DT: 14,3 meses). La edad media al final del seguimiento en los 5 pacientes coinfectados fue de 14,9 años (DT: 4,6 años) y en el grupo de 72 pacientes sin infección por el VHC fue de 13,4 años (DT: 3,8 años).

Tabla 7. Comparación de las características básicas de los 5 niños coinfectados con VHC y los 72 no coinfectados pertenecientes a la cohorte de 77 niños infectados por el VIH con TARGA que incluye LPV/r.

Características básicas		VHC Si %	VHC No %
Sexo	Niño	80,0	61,1
	Niña	20,0	38,9
Estadio clínico	A	20,0	19,4
	B	40,0	30,6
	C	40,0	50,0
Estadio	1	20,0	16,7
Inmunológico	2	60,0	31,9
	3	20,0	51,4
Adherencia	<70%	0	36,4
	70-90%	20,0	22,7
	90-95%	0	15,2
	>95%	80,0	25,8
Dosis inicial (mg LPV/m ² /12h)	<230	20,0	3,4
	230-300	40,0	42,4
	300-400	40,0	49,2
	>400	0	5,1
NRTI nuevos	No	60,0	66,7
	Si	40,0	33,3
IP nuevos	No	100,0	97,2
	Si	0	2,8
NNRTI nuevos	No	100,0	72,2

(LPV: Lopinavir; NRTI: Inhibidores de la Transcriptasa Inversa Análogos de Nucleósido; IP: Inhibidores de la Proteasa; NNRTI: Inhibidores de la Transcriptasa Inversa no Análogos de Nucleósido).

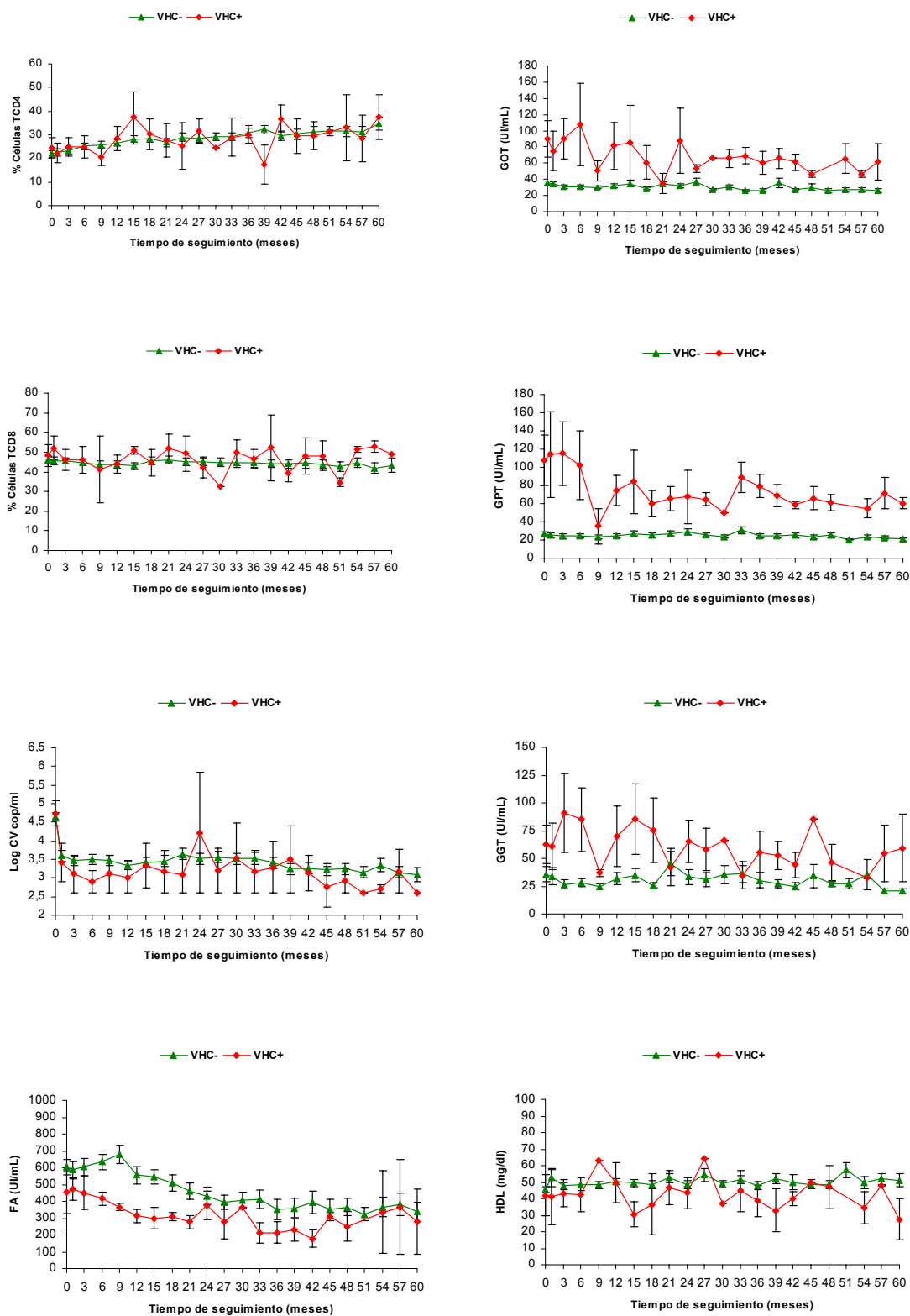
Tabla 7. Continuación de la Tabla anterior.

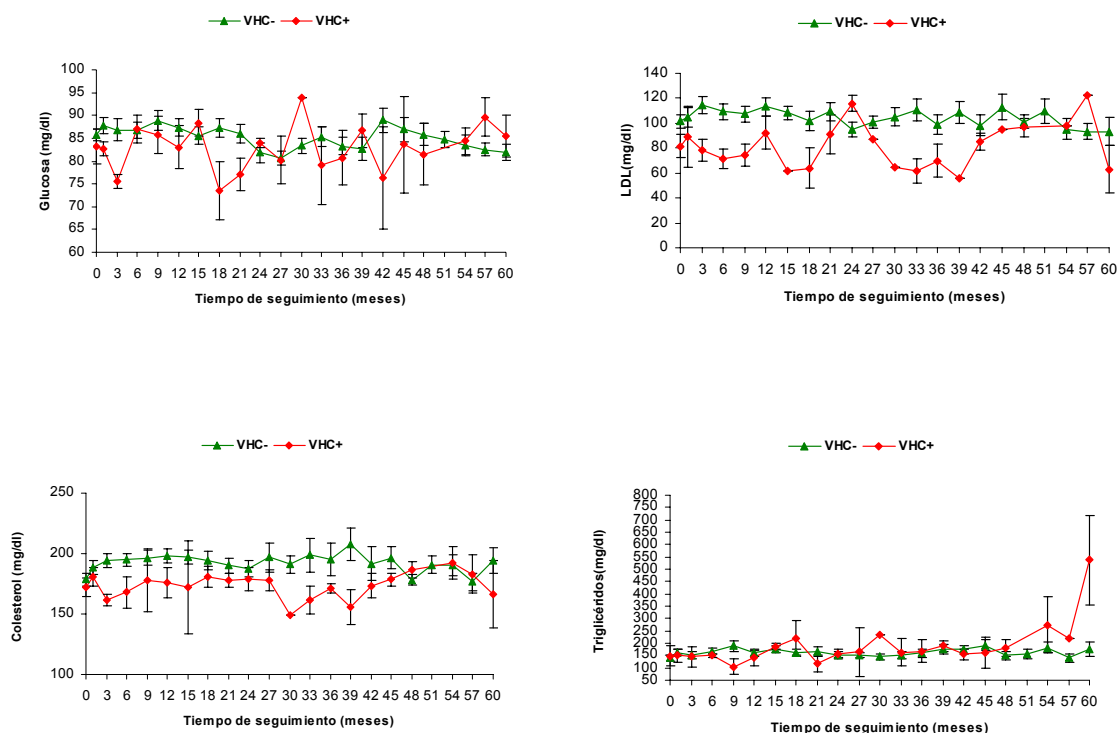
Características básicas*	VHC Si	VHC No
Edad Diagnóstico	0,8 años (0,9)	2,0 años (2,9)
Z score de Peso	-0,3 Kg (0,6)	-0,6 Kg (1,0)
Z score de Talla	0,1m (0,6)	-0,8 m (1,4)
IMC	16,7 (0,6)	16,9 (2,8)
Nº IPs previos	2 (1,4)	2 (1)
Tiempo con NRTI previo (meses)	84,4 (29,8)	71,0 (33,6)
Tiempo con IP previo (meses)	33,8 (14,9)	37,2 (15,4)
Tiempo NNRTI previo (meses)	26,2 (21,2)	12,4 (12,8)
Glucosa (mg/dl)	83 (8)	86 (9)
Colesterol (mg/dl)	172 (16)	179 (41)
LDL-Colesterol (mg/dl)	82 (17)	102 (35)
HDL- Colesterol (mg/dl)	42 (21)	46 (12)
Triglicéridos (mg/dl)	147 (82)	140 (130)
GOT (UI/L)	90 UI/L(50)	35 UI/L (19)
GPT (UI/L)	108 UI/L (61)	27 UI/L (21)
GGT (UI/L)	62 UI/L (30)	36 UI/L (44)
FA (UI/L)	452 UI/L (220)	604 UI/L (308)
% células T CD4+	24,5 % (9,8)	22,0 % (11,3)
% células T CD8+	48 % (13)	46 % (14)
Log10 CV	4,7 (0,7)	4,6 (0,9)

Características básicas*: media y DT. (IMC: Índice de Masa Corporal; IP: Inhibidores de la Proteasa; NRTI: Inhibidores de la Transcriptasa Inversa Análogos de Nucleósido; NNRT: Inhibidores de la Transcriptasa Inversa no Análogos de Nucleósido; UI: Unidades internacionales; Col-HDL: Colesterol unido a lipoproteína de alta densidad; Col-LDL: Colesterol unido a lipoproteína de baja densidad; GOT: Transaminasa glutámico oxalacética; GPT: Transaminasa glutámico pirúvica; GGT: Gamma-glutamyl transpeptidasa; FA: Fosfatasa alcalina; Log CV: Logaritmo de carga viral).

Como se resume en la Tabla anterior, los 5 niños coinfectados por el VHC tenían una historia de TAR más prolongada que los 72 niños no coinfectados, mejores parámetros nutricionales y cifras de Colesterol-LDL y FA básicas más bajas, así como niveles de transaminasas considerablemente más elevados. No existían diferencias significativas en el recuento basal de células T CD4+ y CD8+ y la CV plasmática entre ambos grupos. Un mayor porcentaje de pacientes coinfectados por el VHC respecto al resto de la cohorte, presentó una adherencia muy buena (>95%) durante el seguimiento.

Figura 18. Evolución de los 5 pacientes según la presencia de coinfección por el VHC comparándola con los 72 no infectados por el VHC en una cohorte de 77 niños con infección VIH con TARGA que contiene LPV/r.





(UI: unidades internacionales; GOT: Transaminasa glutámico oxalacética; GPT: Transaminasa glutámico pirúvica; GGT: Gamma-glutamil transpeptidasa; Col-HDL: Colesterol unido a lipoproteína de alta densidad; Col-LDL: Colesterol unido a lipoproteína de baja densidad; FA: Fosfatasa alcalina; Log CV: Logaritmo de carga viral).

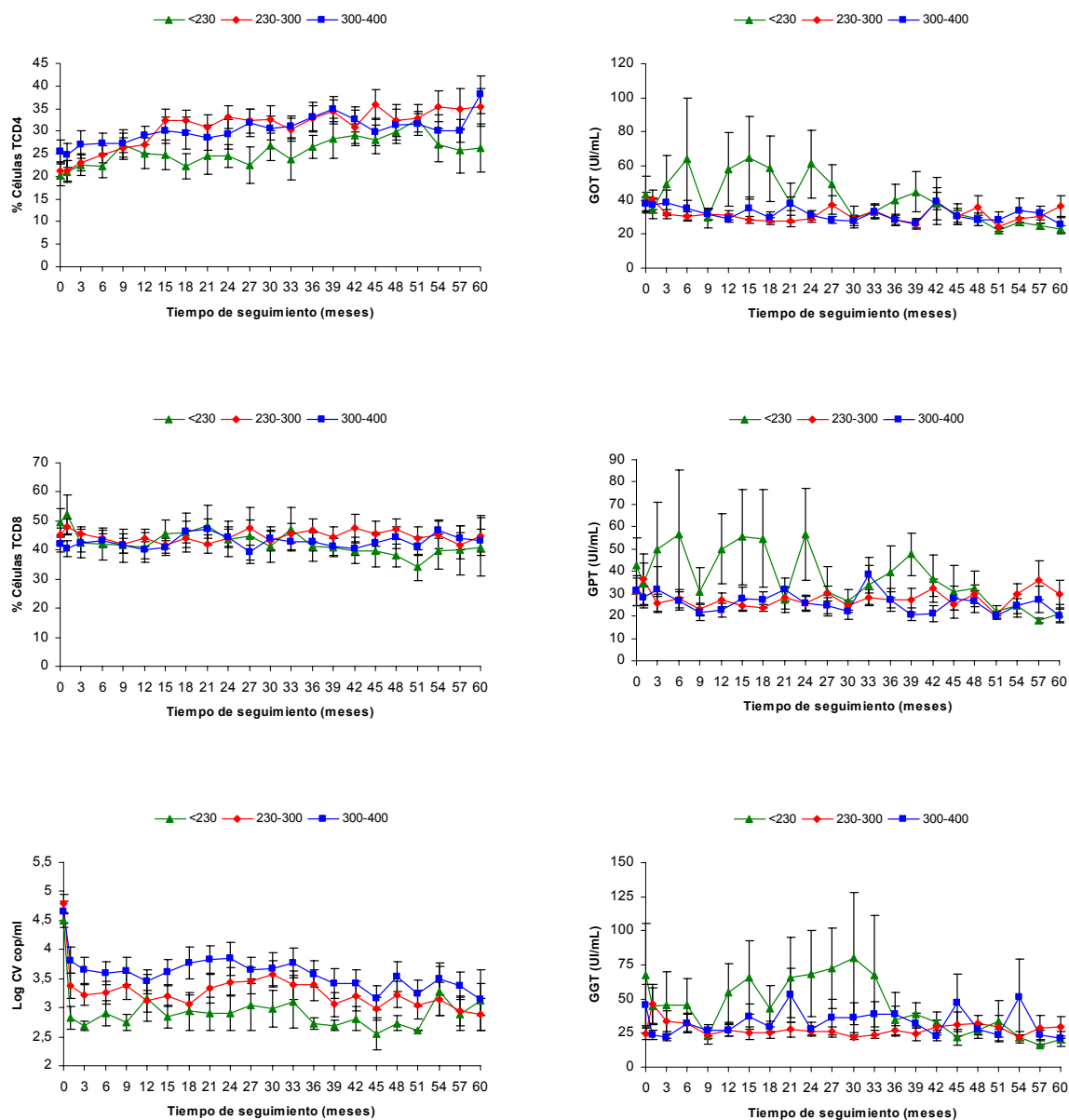
Como se aprecia en la Figura 25, no existieron durante el seguimiento diferencias significativas entre los recuentos de células T CD4+ y CD8+ en ambos grupos de niños aunque si una tendencia a mantener cifras de CV plasmáticas más bajas en el grupo de los 5 niños coinfectados por el VHC. Durante los 60 meses las cifras de GOT, GPT y GGT se mantuvieron más elevadas en los 5 pacientes coinfectados por el VHC. No obstante, en estos 5 niños los niveles de colesterol y FA fueron inferiores a los correspondientes a los 72 niños no coinfectados por el VHC de la cohorte.

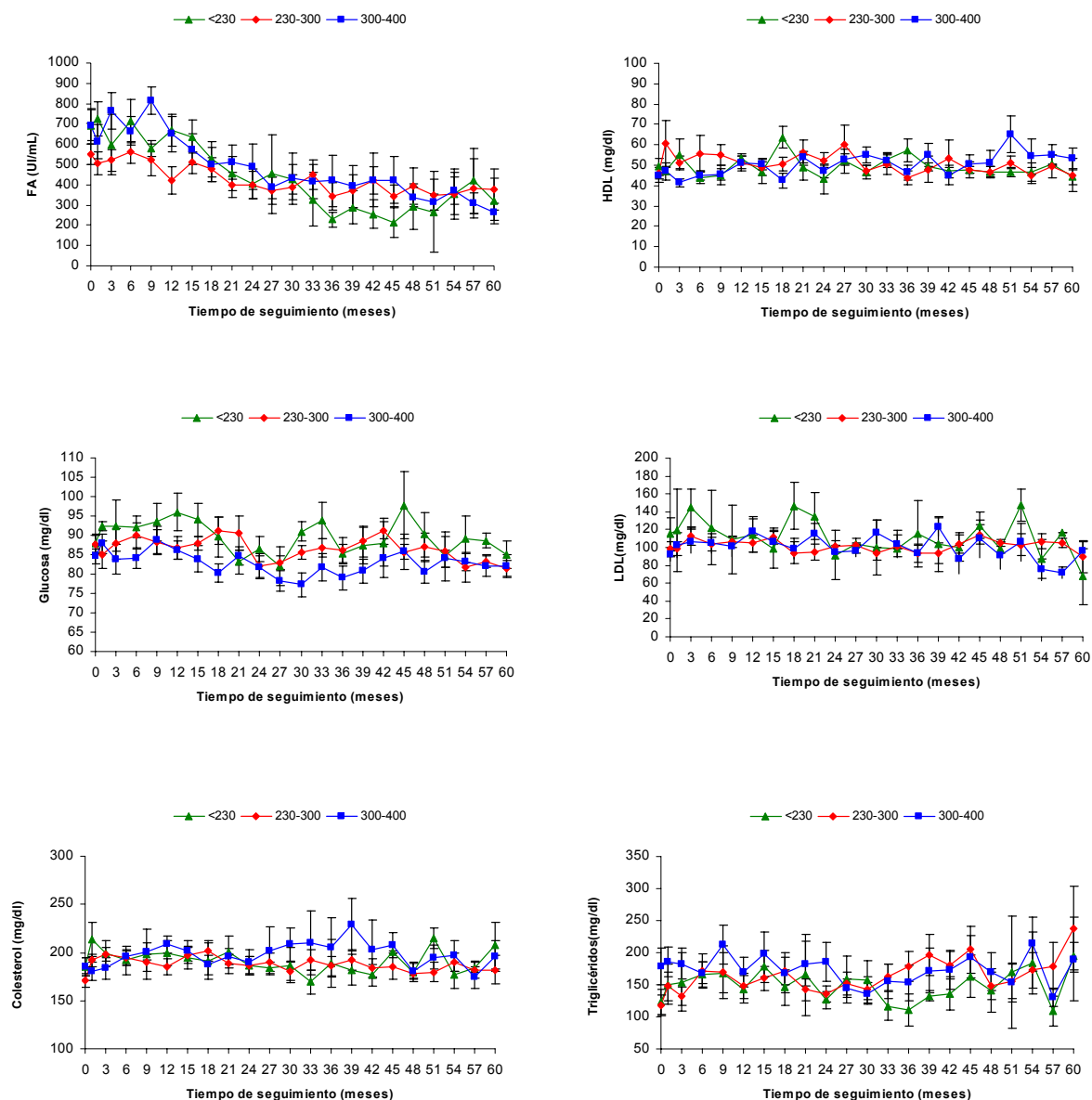
4.2.4. ANÁLISIS DE LA EVOLUCIÓN DE LOS PACIENTES SEGÚN LA DOSIS RECIBIDA DE LPV/R

Los 77 pacientes fueron divididos en 3 subgrupos según el 75% de las dosis recibidas de LPV/r durante el seguimiento perteneciesen a 3 categorías diferentes: <230 mg LPV/m²/12h; entre 230-300 mg LPV/m²/12h y entre 300-400 mg LPV/m²/12h. La evolución de los marcadores analíticos durante el estudio de los diferentes grupos se resume en la Figura 19 donde se aprecia que el grupo que recibió dosis más bajas presentó recuentos de células T CD4+ inferiores a los otros 2 grupos aunque consiguió una mejor supresión de la carga viral plasmática durante el seguimiento. No

existieron diferencias significativas en el resto de parámetros medidos durante el seguimiento aunque los niños que tomaron $<230\text{mg LPV/m}^2/12\text{h}$ tuvieron en la primera mitad del seguimiento elevaciones más marcadas en los niveles de GOT, GPT y GGT.

Figura 19. Evolución de los pacientes según la dosis recibida de LPV (mg LPV/m²/12h) durante el seguimiento en una cohorte de 77 niños con infección VIH con TARGA que contiene LPV/r.





(UI: unidades internacionales; GOT: Transaminasa glutámico oxalacética; GPT: Transaminasa glutámico pirúvica; GGT: Gamma-glutamil transpeptidasa; Col-HDL: Colesterol unido a lipoproteína de alta densidad; Col-LDL: Colesterol unido a lipoproteína de baja densidad; FA: Fosfatasa alcalina; Log CV: Logaritmo de carga viral).

Para describir la variación en los resultados analíticos en los 77 niños durante el estudio, se calculó la diferencia de las medias de los valores en el momento basal, a los 12 y 48 meses. Los resultados se resumen en la Tabla 8 donde se aprecia que en los primeros 12 meses de seguimiento existieron diferencias estadísticamente significativas respecto al momento basal en las cifras de glucosa, colesterol, triglicéridos, recuentos de células T CD4+ y CD8+ y Log₁₀ CV. No obstante, estas diferencias solo se mantuvieron en el mes 48 del seguimiento en las cifras de triglicéridos, células T CD4+ y Log₁₀ CV.

Tabla 8. Variación de los valores analíticos medidos durante el seguimiento expresados como la diferencia de las medias entre los valores básales y los medidos a los 12 y 48 meses.

Parámetro medido y tiempo	Diferencia de las medias	Intervalo de Confianza	p
Glucosa mes 12- Glucosa basal	3,4	0,2 – 6,6	0,040
Colesterol mes 12- Colesterol basal	16,9	5,0- 28,7	0,006
Col-LDL mes 12- Col-LDL basal	-1,6	-16,0 – 12,7	0,814
Col-HDL mes 12- Col-HDL basal	4,7	-0,6 – 10,0	0,081
Triglicéridos mes 12- Triglicéridos basal	34,5	8,4 – 60,5	0,011
% CD4+ mes 12- %CD4 + basal	4,7	2,4 – 6,9	<0,001
% CD8+ mes 12- %CD8 + basal	-3,7	-6,3 – 1,0	0,008
Log ₁₀ CV mes 12- Log CV basal	-1,3	-1,6 – 1,0	<0,001
Glucosa mes 48- Glucosa basal	-1,3	-7,4 – 4,7	0,651
Colesterol mes 48- Colesterol basal	-1,3	-12,4 – 9,78	0,812
Col-LDL mes 48- Col-LDL basal	13,0	- 13,3 – 39,3	0,300
Col-HDL mes 48- Col-HDL basal	-3,8	-10,2 – 2,6	0,231
Triglicéridos mes 48- basal	37,8	7,5 – 68,2	0,016
% CD4+ mes 48- %CD4 + basal	6,5	2,6 – 10,4	0,002
% CD8+ mes 48- %CD8 + basal	1,7	- 3,7 – 7,1	0,528
Log ₁₀ CV mes 48- Log CV basal	-1,9	-2,4 - -1,5	<0,001

(En negrita se señala la significación estadística; Col-HDL: Colesterol unido a lipoproteína de alta densidad; Col-LDL: Colesterol unido a lipoproteína de baja densidad; Log CV: Logaritmo de carga viral).

Al tener en cuenta la dosis recibida por los pacientes durante el seguimiento en el análisis de cómo variaron los parámetros analíticos medidos, se observaron diferencias estadísticamente significativas en el recuento de células T CD4+ en el mes 12 de seguimiento entre los grupos que recibieron 230-300mg LPV/m²/12h cuya mediana de incremento de células CD4+ fue de 6 (P₂₅-P₇₅= 1,5 ; 15,2) con respecto al grupo que recibió 300-400mg LPV/m²/12h cuya mediana de incremento de células T CD4+ fue de 0 (P₂₅-P₇₅= 6,0; -6,0) (p= 0,010). También se observaron diferencias estadísticamente significativas en el recuento de células T CD8+ entre los meses 48 y

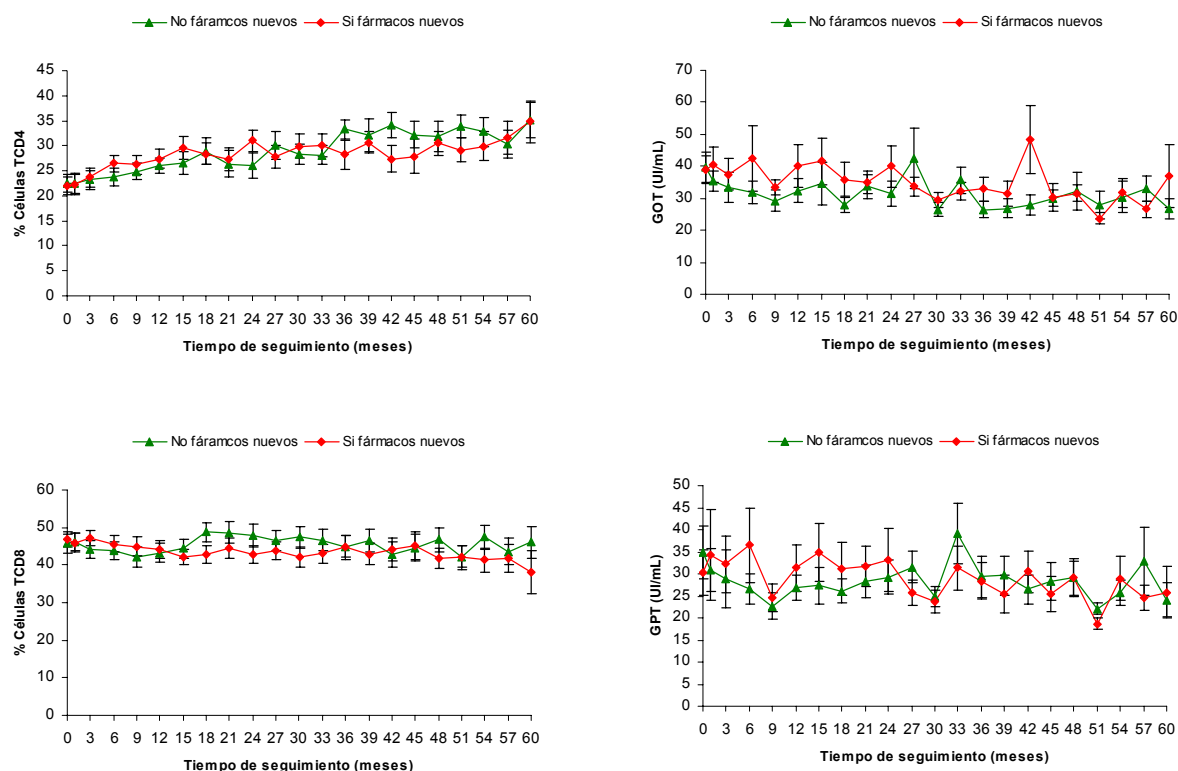
el momento basal entre los grupos que recibieron $<230\text{mg LPV/m}^2/12\text{h}$ cuya mediana de incremento fue de -6 ($P_{25}\text{-}P_{75} = -4,0; -17,0$) con respecto al grupo que recibió $300\text{-}400\text{mg LPV/m}^2/12\text{h}$ cuya mediana de incremento fue de $4,0$ ($P_{25}\text{-}P_{75} = 12,0; 1,0$) ($p < 0,001$).

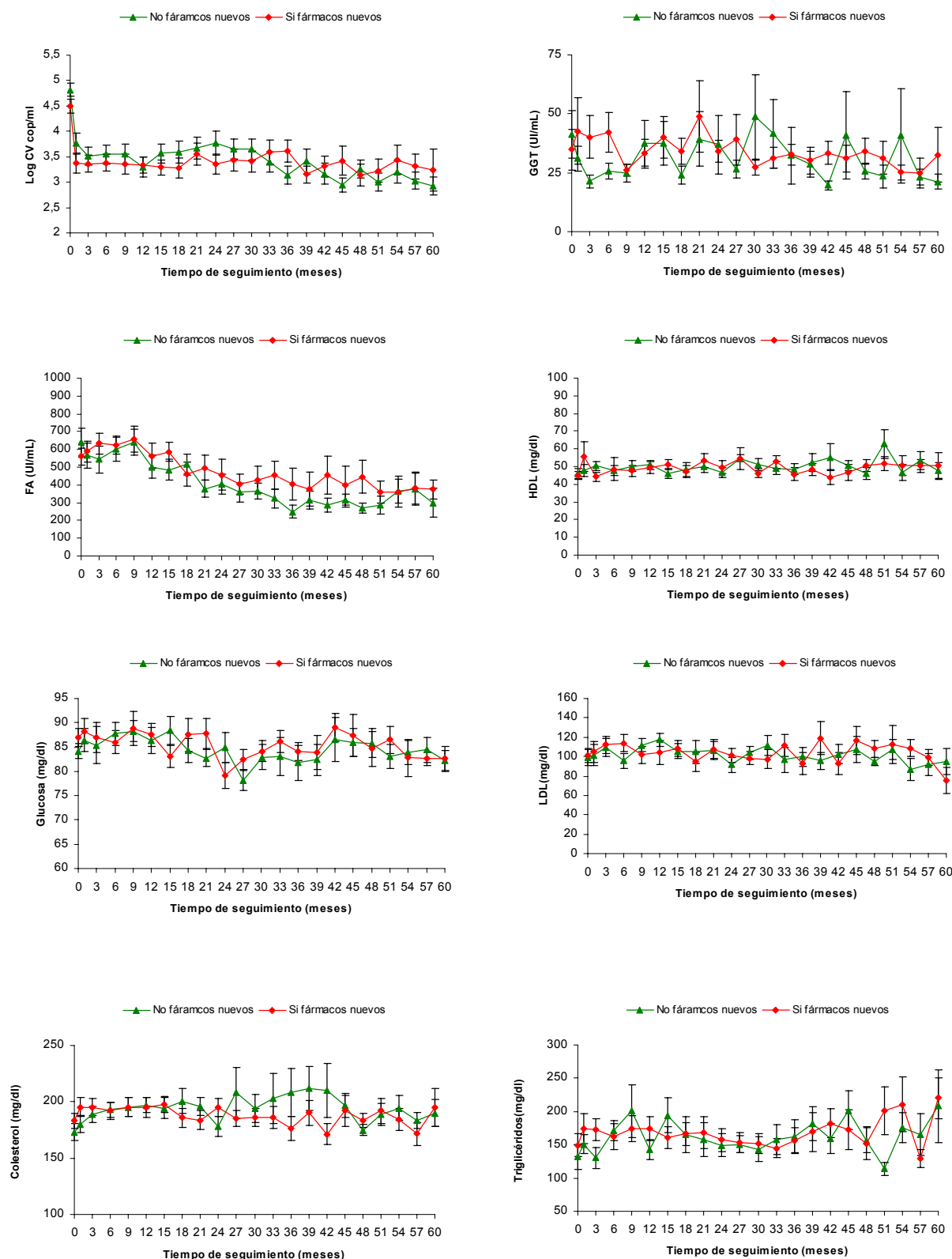
4.2.5. ANÁLISIS DE LA EVOLUCIÓN DE LOS PACIENTES SEGÚN LA LÍNEA TARGA EMPLEADA

4.2.5.1. EVOLUCIÓN SEGÚN LA PRESENCIA DE FÁRMACOS NUEVOS EN LA COMBINACIÓN

Se dividieron a los pacientes en 2 grupos según su pauta TARGA de inicio incluyera o no fármacos que nunca hubieran tomado previamente los pacientes. La diferente evolución durante el seguimiento se representa en la Figura 20 donde se aprecia que en la primera mitad del seguimiento los niños que habían recibido LPV/r acompañado de otros fármacos nuevos lograron recuentos de células T CD4+ más altos así como una mayor supresión de la carga viral plasmática. No obstante estas diferencias no se mantuvieron en la segunda mitad del seguimiento.

Figura 20. Diferente evolución de los pacientes según la pauta TARGA inicial incluyera o no fármacos nuevos (Grupo 0: no incluye fármacos nuevos; Grupo 1: si incluye fármacos nuevos) en una cohorte de 77 niños con infección VIH con TARGA que contiene LPV/r.



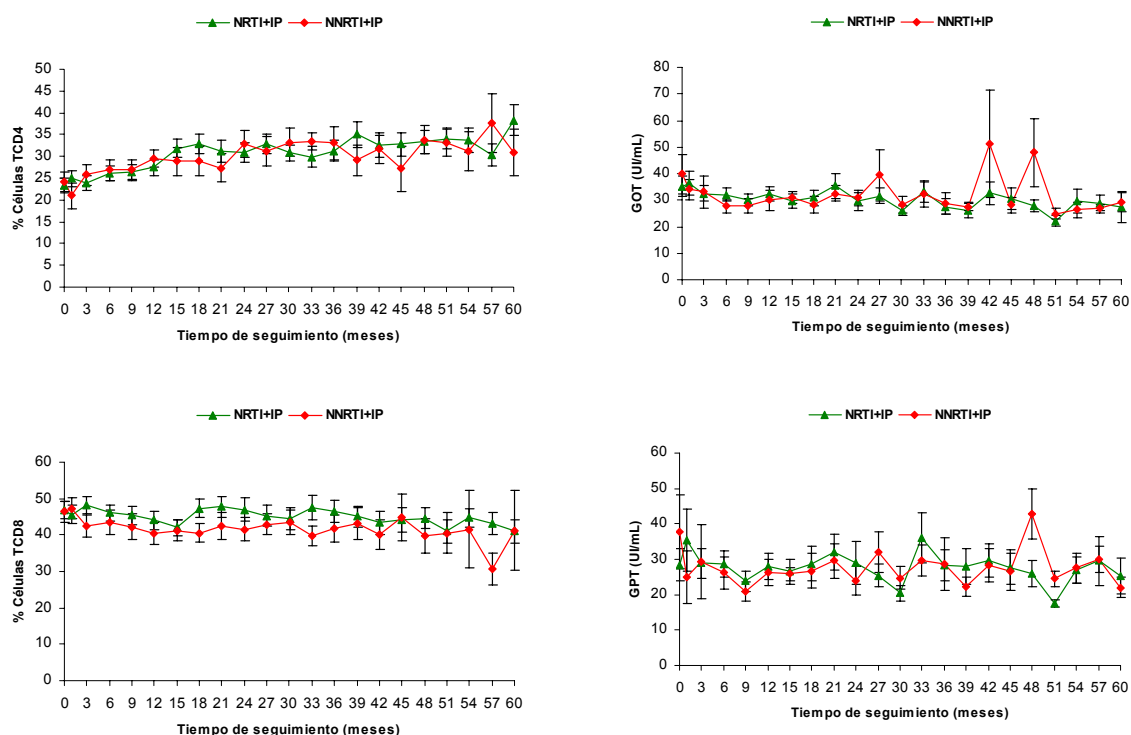


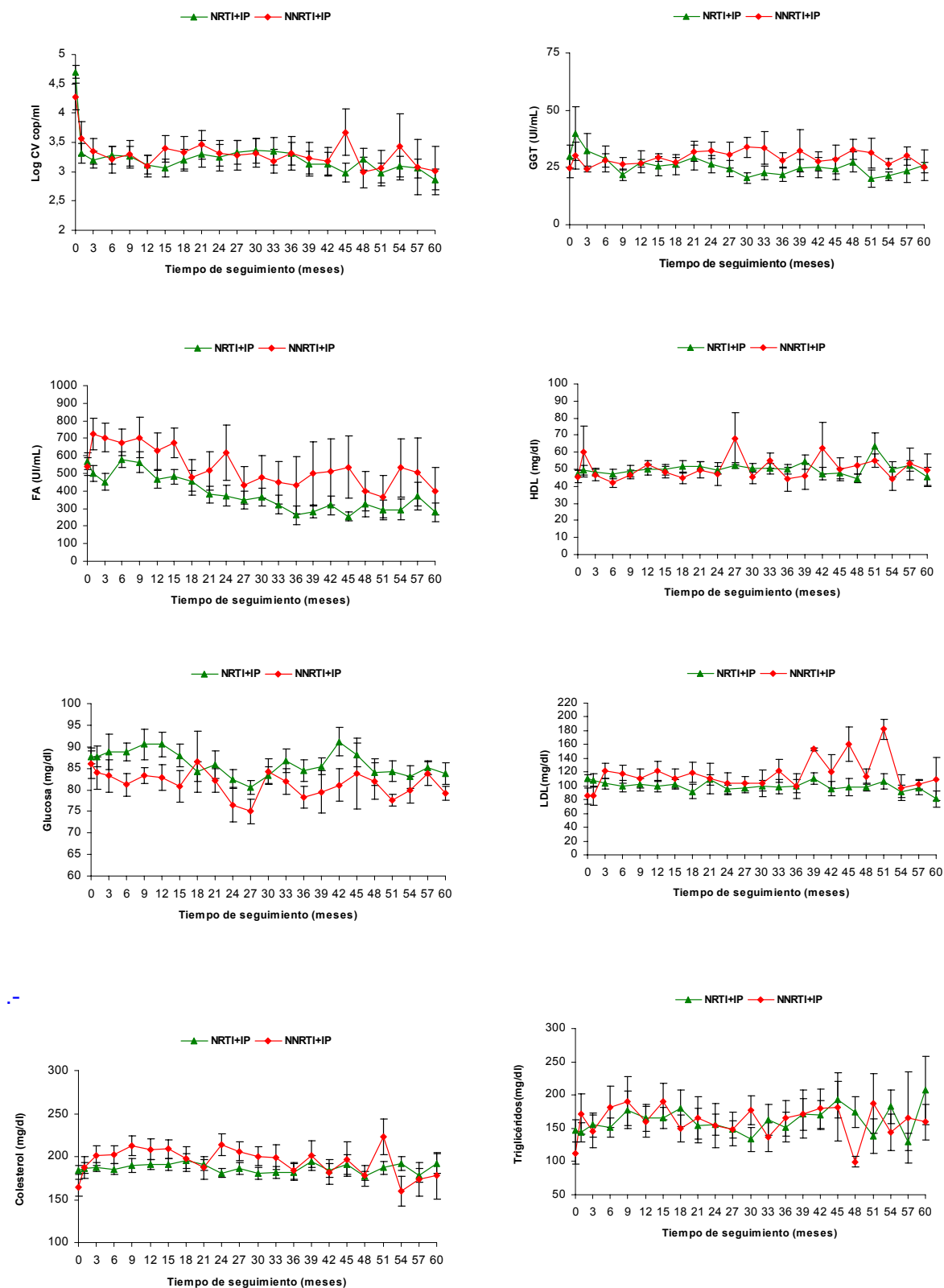
(UI: unidades internacionales; GOT: Transaminasa glutámico oxalacética; GPT: Transaminasa glutámico pirúvica; GGT: Gamma-glutamil transpeptidasa; Col-HDL: Colesterol unido a lipoproteína de alta densidad; Col-LDL: Colesterol unido a lipoproteína de baja densidad; FA: Fosfatasa alcalina; Log CV: Logaritmo de carga viral).

4.2.5.2. EVOLUCIÓN SEGÚN EL TIPO DE TARGA

Se analizó la diferente evolución de los pacientes según el tipo de TARGA empleado durante el seguimiento. Se consideraron 2 tipos de TARGA: aquel que incluía exclusivamente fármacos pertenecientes a la familia NRTI junto al LPV/r y aquel que incluía fármacos pertenecientes a las familias NRTI y NNRTI junto a LPV/r. Los resultados obtenidos se muestran en la Figura 21. Se excluyeron en este apartado a los pacientes que al modificar la línea de tratamiento durante el seguimiento incluyeron fármacos pertenecientes a otras familias que las presentes en el momento basal (total de pacientes excluidos =18). Los niños que recibieron una pauta TARGA que incluía NNRTI + NRTI junto a LPV/r tuvieron recuentos de células T CD8+ y cifras de glucosa, inferiores al otro grupo de niños durante el seguimiento. No obstante, este grupo de niños logró una menor supresión de la carga viral plasmática durante gran parte del seguimiento, así como cifras más elevadas de FA y colesterol total aunque estas diferencias no fueron significativas. En la segunda mitad del seguimiento, el grupo de niños que recibieron una pauta TARGA que incluía NNRTI + NRTI junto a LPV/r presentó una tendencia a mantener cifras más elevadas de GOT, GGT y Colesterol-LDL.

Figura 21. Evolución de los 59 pacientes según el tipo de HAART empleado en el seguimiento (A: NRTI +LPV/r; NA: NRTI+ NNRTI+ LPV/r) en una cohorte de niños con infección por el VIH con TARGA que contiene LPV/r.





(UI: unidades internacionales; GOT: Transaminasa glutámico oxalacética; GPT: Transaminasa glutámico pirúvica; GGT: Gamma-glutamil transpeptidasa; Col-HDL: Colesterol unido a lipoproteína de alta densidad; Col-LDL: Colesterol unido a lipoproteína de baja densidad; FA: Fosfatasa alcalina; Log CV: Logaritmo de carga viral).

4.2.4. ESTUDIO DE LOS PACIENTES QUE INTERRUMPIERON EL TRATAMIENTO CON LPV/r

Durante los años que abarcó el seguimiento 33 de los 77 pacientes discontinuaron el tratamiento con LPV/r. La distribución regular de los pacientes que interrumpieron el tratamiento con LPV/r durante el seguimiento se representa en la Figura 22. Las características básicas de los pacientes que interrumpieron el tratamiento con LPV/r en comparación con las del grupo que mantuvieron la terapia se resumen en la Tabla 6. Los niños que interrumpieron el tratamiento tenían una edad media en el momento del abandono de 13,2 años (DT: 4,3) y los niños que mantenían el tratamiento con LPV/r cuando finalizó el estudio tenían una edad media de 13,7 años (DT: 3,5). El tiempo medio de seguimiento en el grupo que interrumpieron la terapia fue de 39,6 meses (DT: 13,2) mientras que en el grupo que no lo hizo la media de tiempo de seguimiento fue de 55,6 meses (DT: 10,3). El Log CV medio al finalizar la terapia en el grupo de pacientes que interrumpió el TARGA con LPV/r fue de 4,2 (DT: 1,4). Solamente se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos de pacientes al considerar la mediana de IP previos que habían recibido los pacientes y en el porcentaje de pacientes pertenecientes al Estadio B de la clasificación del CDC.

Figura 22. Representación de los pacientes que interrumpen el uso de LPV/r durante el seguimiento en la cohorte de niños infectados por el VIH con TARGA que contenga LPV/r.

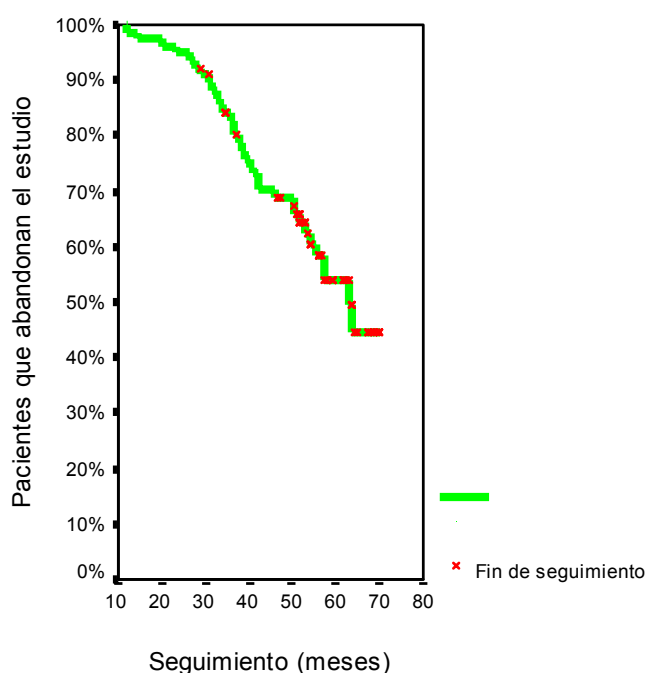


Tabla 9. Comparación de las características básicas de los niños que abandonan el tratamiento con LPV/r y los que no interrumpen.

Características básicas		Abandono Si (%)	Abandono No (%)
Sexo	Niño	54,5	68,2
	Niña	45,5	31,8
Estadio clínico	A	12,1	25,0
	B	33,3	29,5
	C	54,5	45,5
Estadio Inmunológico	1	18,2	15,9
	2	21,2	43,2
	3	60,6	40,9
Adherencia	<70%	43,3	26,8
	70-90%	23,3	22,0
	90-95%	6,7	19,5
	>95%	26,7	31,7
Dosis inicial (mg LPV/m² 12 h)	<230	0	8,6
	230-300	44,8	40,0
	300-400	51,7	45,7
	>400	3,4	5,7
NRTI nuevos	No	66,7	65,9
	Si	33,3	34,1
IP nuevos	No	97,0	97,7
	Si	3,0	2,3
NNRTI nuevos	No	75,8	72,7
	Si	24,2	27,3

NNRTI: Inhibidores de la Transcriptasa Inversa No Análogos de Nucleósido; IP: Inhibidores de (LPV: Lopinavir; NRTI: Inhibidores de la Transcriptasa Inversa Análogos de Nucleósidos; la Proteasa).

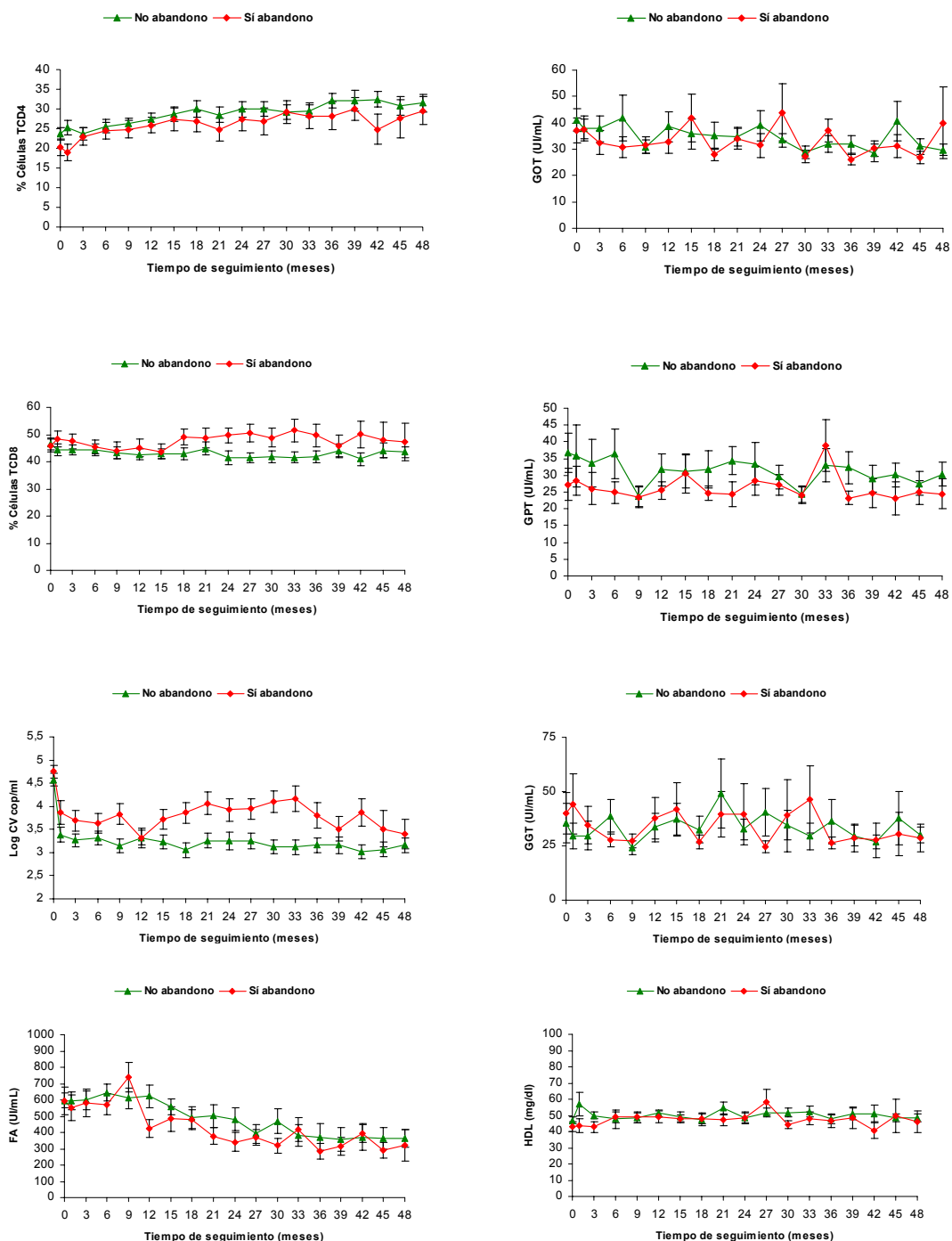
Tabla 9. Continuación de la Tabla anterior.

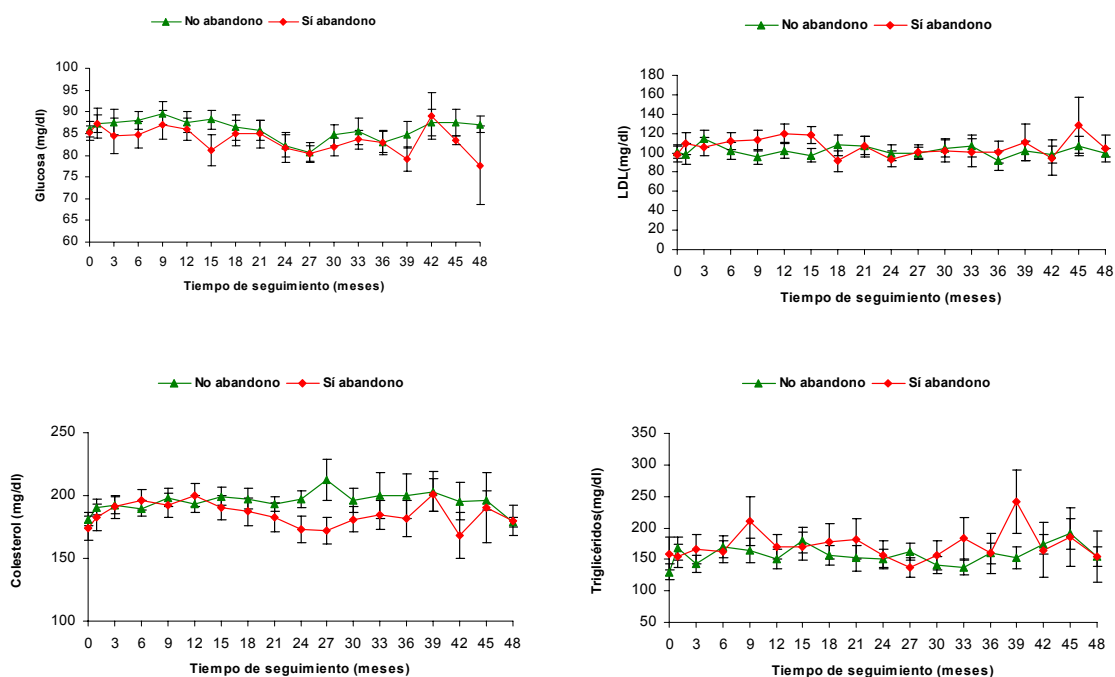
Características básicas*	Abandono Si	Abandono No
Edad Diagnóstico (años)	1,6 (2,1)	2,2 (3,4)
Z score de Peso	-0,8 (1,0)	-0,4 (0,9)
Z score de Talla	-0,9 (1,5)	-0,6 (1,2)
IMC	16,62 (2,7)	17,22 (2,7)
Nº IPs previos**	3 (1-4)	2 (1-3)
Tiempo con NRTI previo (meses)	75,9 (37,3)	68,9 (30,2)
Tiempo con IP previo (meses)	37,0 (15,7)	36,9 (15,3)
Tiempo NNRTI previo (meses)	11,9 (13,0)	14,3 (14,2)
% células T CD4+	20,3 (12,0)	23,6 (10,3)
% células T CD8+	46 (13)	47 (14)
Log ₁₀ CV	4,75 (0,8)	4,58 (0,9)

Características básicas*: media y DT; Características básicas **: mediana y P₂₅-P₇₅ (IMC: Índice de masa corporal; NRTI: Inhibidores de la Transcriptasa Inversa Análogos de Nucleósidos; NNRTI: Inhibidores de la Transcriptasa Inversa No Análogos de Nucleósido; IP: Inhibidores de la Proteasa; Log₁₀ CV: Logaritmo de Carga viral).

Las diferencias en la evolución de los pacientes que abandonaron el uso de LPV/r y aquellos que mantuvieron el tratamiento se resumen en la Figura 23, donde se aprecia que el grupo de pacientes que interrumpió el uso con LPV/r mantuvo durante el seguimiento recuentos de células T CD4+ más bajos así como cifras de linfocitos T CD8+ más altos y una menor supresión de la carga viral plasmática, sin otras diferencias en los parámetros analíticos medidos durante el seguimiento.

Figura 23. Evolución de los pacientes que interrumpen el uso de LPV/r frente a aquellos que lo mantiene en una cohorte de niños con infección VIH con TARGA que contiene LPV/r.





(UI: unidades internacionales; GOT: Transaminasa glutámico oxalacética; GPT: Transaminasa glutámico pirúvica; GGT: Gamma-glutamil transpeptidasa; Col-HDL: Colesterol unido a lipoproteína de alta densidad; Col-LDL: Colesterol unido a lipoproteína de baja densidad; FA: Fosfatasa alcalina; Log CV: Logaritmo de carga viral).

Los motivos de interrupción de la terapia con LPV/r fueron: fracaso terapéutico en 57,6% de los pacientes, interrupción voluntaria en 24,3%, desarrollo de efectos adversos en 9,1%, simplificación del tratamiento en 3%, pérdida del seguimiento en 3% y mala adherencia al tratamiento en 3%. Los pacientes en los que se suspendió el TARGA con LPV/r por el desarrollo de efectos adversos se trataban de 3 niñas con adherencia >95% y muy buena evolución inmuno-virológica (duración del TARGA con LPV/r en las 3 niñas de 54 meses con CV indetectable al finalizar el seguimiento y recuentos de células T CD4+ de 39,1%, 38% y 40%) pero que desarrollaron lipodistrofia durante la terapia y se modificó el régimen para intentar revertirla.

4.3. ANÁLISIS DE LOS FACTORES BÁSALES PRONÓSTICOS DE RECUPERACIÓN INMUNOLÓGICA Y SUPRESIÓN DE LA CARGA VIRAL, EN UNA COHORTE DE NIÑOS INFECTADOS POR EL VIH-1 CON TARGA DE RESCATE QUE INCLUYE LPV/R

Para identificar que factores básicos podían influir en una adecuada recuperación inmunológica y virológica a largo plazo tras el inicio de una pauta TARGA con LPV/r, se incluyeron exclusivamente a aquellos pacientes con fracaso virológico y que hubieran tomado uno o varios IP previamente para homogeneizar la población de estudio.

Por lo tanto, se seleccionaron dentro de la población de niños infectados por el VIH-1 seguidos en 8 hospitales terciarios españoles, que habían comenzado durante los años 2000 a 2003 una pauta TARGA que incluyera LPV/r y que tuvieran un seguimiento mínimo de 12 meses, a aquellos niños que hubiesen comenzado LPV/r tras un fracaso terapéutico a una línea TARGA que al menos hubiera incluido 1 IP previo y que por lo tanto no tuviesen CV indetectables en el momento basal (se exigió que la CV basal fuese > 3 Log).

Dentro de la población estudiada en los apartados 4.1 y 4.2, 69 pacientes cumplían estos criterios de inclusión (3 pacientes no habían tomado IP previos y 5 tenían CV básicas < 3 Log). En ellos se evaluó qué factores podían predecir mantener CV indetectables y recuentos de células T CD4+ $\geq 25\%$ durante 6, 12, 18, 24, 36 y 48 meses tras comenzar un TARGA de rescate que incluía LPV/r. Las características básicas de la población incluida en el estudio se resumen en la Tabla 10.

Tabla 10. Características básicas de los 69 niños estudiados que comenzaron un TARGA de rescate que incluía LPV/r.

Característica	Nº
Edad (años)	9,9 (7,1; 11,3)
Sexo (varón) ¹	45 (65,2%)
Tiempo de seguimiento (meses)	52,6 (36,8; 59,2)
Z-Score Peso	-0,8 (-1,2; -0,2)
Z-Score Talla	-0,8 (-1,7; -0,3)
Z-Score IMC	-0,4 (-1,1; 0)
Estadio Clínico A ¹	13 (18,8%)
Estadio Clínico B ¹	23 (33,3%)
Estadio Clínico C ¹	33 (47,8%)
Estadio inmunológico 1 ¹	13 (18,8%)

Tabla 10. Continuación de la Tabla anterior.

Característica	Nº
Estadio inmunológico 2 ¹	21 (30,4%)
Estadio inmunológico 3 ¹	35 (50,7%)
Colesterol total (mg/dl)	177 (152; 205)
Colesterol- LDL (mg/dl)	101 (71; 118)
Colesterol- HDL (mg/dl)	46 (37; 51)
Triglicéridos (mg/dl)	107 (63; 188)
GOT (UI/L)	33 (27; 41)
GPT (UI/L)	24 (15; 33)
% Células T CD4+	21 (15,2; 29)
% Células T CD8+	46 (39; 58)
Log ₁₀ CV (copias/mL)	4,75 (4,36; 5,31)
Tiempo previo de tratamiento ARV (meses)	74,9 (53,8; 100,6)
Tiempo previo con IP (meses)	40,4 (31,2; 47,3)
Nº IP diferentes previos	2 (1; 3)
NRTI nuevos en el inicio de tratamiento ¹	23 (33,3%)
NNRTI nuevos en el inicio de tratamiento ¹	15 (21,7%)
IP nuevos en el inicio ¹	2 (2,9%)
Adherencia al TAR (%)	90 (70; 99)
Dosis inicio LPV /m ² /12h	300 (256; 330)
Nº PRAMS	1 (1; 2)
Nº LMS	4 (2; 5)
Nº TAMS	2 (1; 4)
Nº Resistencias 1 ^a	1 (0; 2)
Nº Resistencias 2 ^a	2 (1; 4)
>= 6 LMS (n=53) ¹	13 (24,5%)

(Mediana (Percentil₂₅; Percentil₇₅); ¹Frecuencia (porcentaje); IMC: Índice de masa corporal; Colesterol-HDL: Colesterol unido a lipoproteína de alta densidad; Colesterol-LDL: Colesterol unido a lipoproteína de baja densidad; GOT: Transaminasa glutámico oxalacética; GPT: Transaminasa glutámico pirúvica; Log₁₀ CV: Logaritmo de Carga viral; ARV: Antirretrovirales; IP: Inhibidores de la Proteasa; NRTI: Inhibidores de la Transcriptasa Inversa Análogos de Nucleósidos; NNRTI: Inhibidores de la Transcriptasa Inversa No Análogos de Nucleósido; TAR: Tratamiento antirretroviral; LPV: lopinavir; PRAMS: Mutaciones asociadas a la proteasa; LMS: Score de mutaciones de lopinavir; TAM: Mutaciones asociadas a los análogos de timidina)

Resistencias primarias: I74A 46L/I 48M/V 50V 54T/V/A/M 82^a/F/T/S; Resistencias 2^a: 10I/F 16E 20M/I 32I 33F 34Q 43T 47V 58E 63T 73T 74S 89M/I 90M; PRAMS: D30N G48V V82A/F/T/S I84V L90M; LSM: L10F/I/R/V K20M/R L24I M46I/L F53L I54L/T/V L63P A71I/L/T/V V82A/F/T I84V L90M; TAMS: 41L 67N 70R 210W 215F/Y 219E/Q/R/S/N.

4.3.1. FACTORES BASALES PRONÓSTICOS PARA MANTENER CV INDETECTABLE DURANTE 6, 12, 18, 24, 36 Y 48 MESES

Para identificar qué factores basales podían influir en una adecuada supresión viral, se realizó una regresión logística para calcular el odds ratio (OR) para alcanzar CV indetectable (< 400 copias/ml). Se consideró mantener CV plasmática indetectable durante 6, 12, 18, 24, 36 y 48 meses como la variable dependiente. Las variables independientes fueron; edad, recuento de células CD4+, \log_{10} CV, duración previa del TAR, tiempo previo con IP, número de IP previos, número de resistencias primarias y tener ≥ 6 mutaciones pertenecientes al LMS. En primer lugar se realizó un análisis univariante para identificar los factores pronósticos basales y a continuación un análisis multivariante con las variables más significativas; edad, recuento de células T CD4+, \log_{10} CV y tiempo previo con IP. Los resultados obtenidos en el análisis se resumen en la Tabla 11 donde se observa como la cifra de células T CD4+ en el momento basal fue el factor pronóstico más importante para predecir una adecuada supresión viral durante todo el seguimiento. Incluso en el análisis multivariante en los últimos 24 meses del seguimiento la cifra de CD4+ basal fue el factor pronóstico más relevante para conseguir un adecuado control de la CV. El número previo de IP que los pacientes hubiesen tomado antes del inicio del estudio, fue el segundo factor más importante durante los primeros 24 meses. No obstante, en el análisis multivariante el tiempo previo con IP solo fue determinante en los meses 12 y 48 del seguimiento. La edad no influyó en el control de la CV en la cohorte de niños estudiada.

4.3.2. FACTORES BASALES PRONÓSTICOS PARA MANTENER RECuentos DE CÉLULAS T CD4+ $\geq 25\%$ DURANTE 6, 12, 18, 24, 36 Y 48 MESES

Para identificar los factores basales que podían influir en mantener recuentos de células T CD4+ $\geq 25\%$ durante 6, 12, 18, 24, 36 y 48 meses en los 69 niños que comenzaron una pauta TARGA de rescate con LPV/r, se realizó un análisis similar al descrito en el apartado anterior que se resume en la Tabla 12. De nuevo la cifra basal de células T CD4+ fue el factor pronóstico más importante para mantener una adecuada recuperación inmunológica durante todo el estudio. Los resultados del análisis multivariante corroboran la importancia de la cifra basal de linfocitos T CD4+ en una recuperación inmunológica adecuada y sostenida. El número previo de IP así como la duración del tratamiento previo con este grupo de fármacos, fueron factores pronósticos importantes en el análisis univariante. No obstante, sólo la duración previa del tratamiento con IP en la segunda mitad del seguimiento fue considerado como un

factor pronóstico para mantener una adecuada recuperación inmunológica en el análisis multivariante.

4.3.3. RESULTADOS A LARGO PLAZO DEL TRATAMIENTO CON LPV/R SEGÚN EL RECuento DE CÉLULAS T CD4+ Y CARGA VIRAL BASAL

Para describir la respuesta a largo plazo del tratamiento con LPV/r observada en los 69 niños que comenzaron una pauta TARGA con LPV/r de rescate, se realizó un análisis multivariante empleando un modelo lineal de medidas repetidas. Las variables dependientes fueron las diferencias en las medias de los recuentos de células T CD4+ y Log_{10} de CV entre el momento basal y el 2º año con TARGA con LPV/r y entre el 2º años y el 4º año con TARGA con LPV/r. Como variables independientes se consideró; el recuento de células T CD4+ según 3 estratos (0 -15%; 15 - 25%; >25%) y la carga viral plasmática también dividida en 3 estratos (0 – 30.000; 30.000 – 100.000; >100.000 copias/ml). Este análisis se ajustó según las siguientes características basales; edad, recuento de células T CD4+, Log_{10} de CV y tiempo previo con IP. Los resultados se resumen en la Tabla 13, donde se observa como las diferencias de CV tanto entre el momento basal y el 2º año con TARGA con LPV/r como entre el 2º y 4º año de tratamiento fueron siempre diferentes según el estrato de células T CD4+ y de CV en el momento basal. Además, la diferencia de las medias de los recuentos de células T CD4+ entre el inicio del estudio y el 2º año fueron estadísticamente significativas entre el grupo de niños con recuentos de linfocitos T CD4+ más elevados (>25%) y aquellos con recuentos más bajos (<15%).

Tabla 11. Resumen de la regresión logística empleada para identificar factores basales pronósticos para mantener CV indetectable durante 6, 12, 18, 24, 36 y 48 meses en la cohorte de 69 niños con VIH que comenzaron una línea TARGA de rescate que incluía LPV/r.

	6 meses	12 meses	18 meses	24 meses	36 meses	48 meses
N	69	69	67	64	54	47
Análisis Univariante						
Edad (años)	0,9 (0,8; 1,1)	0,9 (0,8; 1,0)	0,9 (0,8; 1,0)	0,8 (0,7; 1,0)	0,8 (0,7; 1,0)	0,9 (0,8; 1,1)
Células T CD4+ (%)	1,0 (1,0; 1,1) **	1,0 (1,0; 1,1) **	1,1 (1,0; 1,1) **	1,0 (1,0; 1,1) **	1,1 (1,03; 1,1) **	1,1 (1,0; 1,2) **
Log ₁₀ CV (copias/mL)	0,6 (0,3; 1,2)	0,4 (0,2; 0,9) *	0,3 (0,1; 0,7) **	0,4 (0,2; 0,8) *	0,4 (0,1; 0,9) *	0,4 (0,1; 1,0)
Tiempo previo con TAR (meses)	0,8 (0,9; 1,0) *	0,9 (0,9; 1,0) *	0,9 (0,9; 1,0) *	0,9 (0,9; 1,0) *	0,9 (0,9; 1,0)	0,9 (0,9; 1,0)
Tiempo previo con IP (meses)	0,9 (0,9; 0,9) *	0,9 (0,9; 0,9) *	0,9 (0,9; 0,9) *	0,9 (0,9; 1,0) *	0,9 (0,9; 1,0) *	0,9 (0,9; 0,9) *
Nº previo de IP	0,7 (0,3; 0,8) **	0,4 (0,5; 0,7) **	0,4 (0,2; 0,7) **	0,4 (0,2; 0,8) **	0,5 (0,3; 0,9) *	0,4 (0,2; 0,8) *
Nº resistencias primarias	0,4 (0,4; 1,3)	0,4 (0,1; 1,1)	0,3 (0,1; 1,0)	0,4 (0,1; 1,3)	0,4 (0,1; 1,3)	0,3 (0,1; 1,3)
LMS >=6	0,3 (0,1; 1,2)	0,2 (0,1; 0,9) *	0,1 (0,1; 0,7) *	0,1 (0,1; 0,8) *	0,1 (0,0; 0,7) *	-
Análisis Multivariante						
Edad (años)	0,9 (0,8; 1,1)	0,9 (0,8; 1,1)	0,9 (0,8; 1,1)	0,9 (0,7; 1,1)	1,0 (0,8; 1,2)	1,2 (0,9; 1,5)
Células T CD4+ (%)	1,6 (0,9; 2,8)	1,8 (1; 3,4)	1,8 (0,9; 3,4)	1,7 (0,9; 3,2)	2,1 (1; 4,3) *	2,5 (1; 5,7) *
Log ₁₀ CV (copias/mL)	0,6 (0,3; 1,4)	0,5 (0,2; 1,2)	0,2 (0,1; 0,7) **	0,3 (0,1; 0,9) *	0,4 (0,1; 1,2)	0,4 (0,1; 1,6)
Tiempo previo con IP (meses)	0,9 (0,9; 1,1)	0,9 (0,9; 1,0) *	0,9 (0,9; 1,0)	0,9 (0,9; 1,1)	0,9 (0,9; 1,0)	0,9 (0,8; 0,9) *

Los valores se expresan como odds ratio (intervalo de confianza del 95%). CV: Carga viral. TAR: tratamiento antirretroviral. IP: Inhibidor de Proteasa. LMS: Score de mutaciones del lopinavir. Significación estadística (*: p<0.05; **: p<0.001).

Tabla 12. Resumen de la regresión logística empleada para identificar factores basales pronósticos para mantener recuentos de células T CD4+ \geq 25% durante 6, 12, 18, 24, 36 y 48 meses en la cohorte de 69 niños con VIH que comenzaron una línea TARGA de rescate que incluía LPV/r.

	6 meses	12 meses	18 meses	24 meses	36 meses	48 meses
N	69	69	67	64	54	47
Análisis Univariante						
Edad (años)	0,8 (0,7; 0,9) *	0,8 (0,7; 1,0) *	0,9 (0,8; 1,1)	0,8 (0,7; 1,1)	0,8 (0,7; 1,0)	0,8 (0,7; 1,0)
Células T CD4+ (%)	1,1 (1,0; 1,2) **	1,1 (1,0; 1,2) **	1,1 (1,0; 1,2) **	1,1 (1,1; 1,2) **	1,1 (1,0; 1,2) **	1,2 (1,1; 1,4) **
Log ₁₀ CV (copias/mL)	0,7 (0,3; 1,5)	0,6 (0,3; 1,2)	0,6 (0,3; 1,3)	0,3 (0,1; 0,8) *	0,4 (0,1; 1,0)	0,4 (0,1; 1,0)
Tiempo previo con TAR (meses)	0,9 (0,9; 1)	0,9 (0,8; 1,1)	0,9 (0,8; 1,1)	0,9 (0,8; 1,0) *	0,9 (0,8; 1,0) *	0,9 (0,8; 1,0) *
Tiempo previo con IP (meses)	0,9 (0,8; 0,9) *	0,9 (0,9; 0,9) *	0,9 (0,8; 1,0) *	0,9 (0,8; 1,0) *	0,9 (0,8; 1,0) *	0,9 (0,8; 1,0) **
Nº previo de IP	0,6 (0,3; 0,9) *	0,5 (0,3; 0,8) *	0,5 (0,3; 0,8) *	0,4 (0,3; 0,8) **	0,4 (0,2; 0,8) **	0,4 (0,2; 0,8) *
Nº resistencias primarias	0,6 (0,2; 1,9)	0,6 (0,2; 1,9)	0,5 (0,1; 1,5)	0,4 (0,1; 1,2)	0,4 (0,1; 1,3)	0,3 (0,1; 1,2)
LMS \geq 6	0,6 (0,1; 2,2)	0,5 (0,1; 1,8)	0,4 (0,1; 1,6)	0,3 (0,9; 1,1)	0,3 (0,1; 1,3)	0,1 (0,1; 0,8) *
Análisis Multivariante						
Edad (años)	0,9 (0,7; 1,0)	0,9 (0,8; 1,1)	0,9 (0,8; 1,2)	0,9 (0,8; 1,2)	0,9 (0,8; 1,2)	1,3 (0,9; 1,8)
Células T CD4+ (%)	4,9 (1,9; 12,3) **	5,2 (2,1; 13,4) **	4,3 (1,8; 10,3) **	3,5 (1,5; 8,3) **	3,8 (1,5; 9,2) **	14 (2,5; 79,1) **
Log ₁₀ CV (copias/mL)	1,5 (0,6; 4,2)	1,1 (0,4; 3,0)	1,1 (0,4; 2,9)	0,4 (0,1; 1,3)	0,5 (0,2; 1,8)	0,4 (0,1; 2,9)
Tiempo previo con IP (meses)	0,9 (0,9; 1,0)	0,96 (0,9; 1,1)	0,9 (0,8; 1,1)	0,9 (0,8; 1,0) *	0,9 (0,8; 1,1)	0,84 (0,7; 0,9) **

Los valores se expresan como odds ratio (intervalo de confianza del 95%). CV: Carga viral. TAR: tratamiento antirretroviral. IP: Inhibidor de Proteasa. LMS: Score de mutaciones del lopinavir. Significación estadística (*: $p < 0.05$; **: $p < 0.001$).

Tabla 13. Resumen de los cambios de las medias marginales estimadas del recuento de células T CD4+ y Log₁₀ CV (copias/ml) en la cohorte de 69 niños con VIH que comenzaron una línea TARGA de rescate que incluía LPV/r desde el momento basal hasta el 2º año y desde el 2º año al 4º año de tratamiento.

		Desde el momento basal hasta el 2º año con TARGA con LPV/r				Desde el 2º año hasta el 4º año con TARGA con LPV/r			
Momento basal		%CD4 ⁺ (IC 95%)		Log ₁₀ CV (cp/ml) (IC 95%)		%CD4 ⁺ (IC 95%)		Log ₁₀ CV (cp/ml) (IC 95%)	
Estratos según el recuento de células T CD4+	N			N			N		
	0-15%	11	16,6 (8,0; 25,2) *	11	-1,3 (-2,3; -0,4)	7	9,7 (0,4; 19,1)	7	-1,6 (-2,5; -0,6)
	15 – 25%	19	5,2 (-0,9; 11,3)	19	-0,9 (-1,6; -0,3)	11	10,1 (2,6; 17,5)	11	-2,3 (-3,1; -1,5)
	> 25%	21	-0,5 (-6,6; 5,5) *	21	-1,6 (-2,3; -0,9)	17	3,6 (-2,4; 9,7)	16	-2,0 (-2,6; -1,4)
Estratos según CV (copies/mL)	N			N			N		
	< 30.000	19	8,9 (2,9; 14,8)	19	-0,9 (-1,5; -0,2)	10	7,0 (-0,1; 14,1)	8	-2,0 (-2,9; -1,1)
	30.000 – 100.000	15	3,4 (-3,0; 9,7)	15	-1,0 (-1,8; -0,3)	14	3,9 (-2,1; 9,9)	14	-1,7 (-2,4; -1,0)
	≥ 100.000	17	3,0 (-3,4; 9,4)	17	-2,1 (-2,8; -1,3)	11	10,6 (3,6; 17,6)	12	-2,4 (-3,2; -1,6)

ICI95%: Intervalo de confianza del 95%; Los valores están expresados como media (IC95%). En negrita se indican los incrementos estadísticamente significativos. (*): Diferencias estadísticamente significativas entre el estrato de células T CD4⁺ de 0-15% y el estrato de > 25%. CV: Carga viral. TARGA: Tratamiento antirretroviral de alta eficacia. El análisis multivariante fue ajustado por el recuento de células T CD4, CV, edad (años) y tiempo previo con IP (meses).

4.4. CONSIDERANDO LA CARGA VIRAL COMO PARÁMETRO DE RESPUESTA, COMPARACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS BASALES, A LOS 12 Y A LOS 42 MESES EN UNA COHORTE DE NIÑOS INFECTADOS POR EL VIH-1 CON TARGA DE RESCATE QUE INCLUYE LPV/R

En este estudio los pacientes fueron clasificados según el control de la CV que mantuvieron durante el seguimiento. Se incluyeron a todos los niños infectados por el VIH-1 seguidos en 8 hospitales terciarios españoles, que habían comenzado durante los años 2000 a 2003 una pauta TARGA de rescate que incluyera LPV/r y que tuvieran un seguimiento mínimo de 12 meses. Se excluyeron todos aquellos pacientes que no tenían medidas de CV en más del 95% de los controles realizados así como a todos aquellos que no tuviesen CV plasmática $< 3 \text{ Log}_{10}$ en el momento basal o que no hubiesen tomado uno o más IP previos.

Se incluyeron 65 pacientes y se consideraron 3 parámetros para definir la respuesta:

- 1) alcanzar CV indetectable en el primer año tras comenzar el TARGA
- 2) mantener CV indetectable al menos 1 año seguido durante el seguimiento y
- 3) conseguir que un 75% de las medidas de CV durante el seguimiento estuvieran por debajo del límite considerado como CV indetectable (< 400 copias/ml).

Aquellos pacientes que cumplieran los 3 criterios ó los criterios 1 y 3 fueron considerados como buenos respondedores. Los que cumplieran los criterios 1 y 2 ó solo el criterio 1 fueron considerados como respondedores moderados y los que no cumplieran ningún criterio fueron considerados como malos respondedores.

Las características básicas del total de la población y de todos los grupos comparadas entre si se resumen en la Tabla 14. Los niños cuya respuesta virológica fue considerada como mala durante el seguimiento tenían peores parámetros nutricionales, deterioro inmunológico más marcado, CV plasmáticas más elevadas y mayor historia de tratamiento antirretroviral con la consiguiente acumulación de resistencias, que los niños cuya evolución fue considerada como buena durante el seguimiento. Además el grupo de niños con una evolución más desfavorable recibió dosis más altas de LPV al inicio y su adherencia fue peor. El grupo cuya respuesta fue definida como moderada también tenía recuentos de células T CD4+ más bajos que el grupo de buenos respondedores.

Tabla 14. Características básicas según la respuesta virológica en la cohorte de 65 niños con infección VIH que comenzaron una línea TARGA de rescate que incluía LPV/r. Se incluyen las características básicas del total de la población así como de los diferentes grupos comparándolas entre sí.

Característica	Buena respuesta	Respuesta moderada	Mala respuesta	TOTAL
N	30	13	22	65
Edad (años)	9.4 (5.1; 11.4)	9.3 (5.4; 13.5)	10.1 (8.9; 12.4)	9.8 (6.9; 11.8)
Sexo (varón)¹	19 (63.3)	9 (69.2)	16 (72.7)	44 (67.7)
Tiempo de seguimiento (meses)	55.1 (50.7; 62.0)	55.8 (31.3; 60.2)	41.2 (30.2; 54.6) *	52.5 (36.7; 59.2)
Z-Score Peso	-0.5 (-0.9; 0.0)	-0.8 (-1.4; -0.3)	-0.9 (-1.4; -0.4) *	-0.8 (-1.1; -0.2)
Z-Score Talla	-0.4 (-1.4; 0.2)	-0.5 (-2.3; 0.9)	-1.4 (-2.0; -0.8) *	-0.8 (-1.7; 0.1)
IMC	16.4 (15.6; 17.9)	15.3 (14.8; 16.4)	16.6 (15.3; 17.9)	16.3 (15.3; 17.6)
Estadio Clínico¹				
A	8 (26.7)	2 (15.4)	2 (9.1)	12 (18.5)
B	11 (36.7)	6 (46.2)	4 (18.2)	21 (32.3)
C	11 (36.7)	5 (38.5)	16 (72.7)	32 (49.2)
Estadio inmunológico¹				
1	10 (33.3)	2 (15.4)	0 *	12 (18.5)
2	11 (36.7)	4 (30.8)	5 (22.7)	20 (30.8)
3	9 (30.0)	7 (53.8)	17 (77.3) *	33 (50.8)
Colesterol total (mg/dl)	175 (159; 211)	180 (131; 195)	192 (120; 213)	177 (153; 209)
Colesterol-HDL (mg/dl)	102 (76; 124)	75 (63; 115)	115 (74; 130)	106 (69; 119)
Colesterol-LDL (mg/dl)	45 (39; 51)	45 (37; 53)	43 (32; 49)	45.0 (37; 51)
Triglicéridos (mg/dl)	103 (62; 193)	96 (47; 117)	128 (81; 296)	109 (68; 189)
GOT (UI/L)	32 (28; 37)	39 (24; 41)	33 (27; 43)	33 (27; 41)
GPT (UI/L)	22 (14; 37)	17 (11; 33)	25 (19; 39)	24 (15; 33)
Células T CD4+%	25 (19; 33)	16 (11; 25) *	16 (7; 26) *	21 (15; 29)
Células T CD8+%	44 (39; 54)	48 (37; 62)	53 (37; 59)	46 (38; 58)
Log₁₀CV (copias/ml)	4.45 (4.13; 4.79)	4.87 (4.07; 5.40)	4.86 (4.65; 5.59) *	4.68 (4.27; 5.26)

Tabla 15. Continuación de la Tabla anterior.

Característica	Buena respuesta	Respuesta moderada	Mala respuesta	TOTAL
Tiempo total con TAR (meses)	71 (48; 90)	69 (45; 101)	80 (59; 113)	74 (51; 99)
Tiempo total con IP (meses)	34 (25; 45)	41 (26; 46)	45.2 (39; 56) *	40 (29; 48)
Nº IP diferentes	2 (1; 2)	2 (1; 3)	3 (2; 4) * †	2 (1; 3)
Nº NRTI nuevos en el inicio de tratamiento	10 (33.3)	7 (53.8)	5 (22.7)	22 (33.8)
Nº NNRTI nuevos en el inicio de tratamiento	7 (23.3)	4 (30.8)	5 (22.7)	16 (24.6)
Nº IP nuevos en el inicio	0	1 (7.7)	1 (4.5)	2 (3.1)
Adherencia al TAR (%)	95 (85; 99)	70 (55; 96) *	80 (70; 90) *	90 (70; 99)
Dosis inicio LPV/m ² /12h	300 (270; 400)	250 (237; 312) *	399 (260; 400) †	300 (252; 400)
PRAMS	1 (1; 2)	1 (0; 1)	2 (1; 2)	1 (1; 2)
LMS	3 (1; 4)	4 (2; 5)	5 (1; 7)	4 (2; 5)
TAMS	3 (1; 4)	3 (1; 3)	2 (2; 4)	2 (1; 4)
Nº Resistencias 1 ^a	1 (0; 2)	1 (0; 1)	2 (1; 3) * †	1 (0; 2)
Nº Resistencias 2 ^a	2 (1; 4)	2 (1; 4)	3 (1; 4)	2 (1; 4)
>= 6 LMS (n=43)	2 (9.1)	2 (20)	8 (47.1) *	12 (24.5)

(Mediana (Percentil₂₅; Percentil₇₅); ¹ Frecuencia (porcentaje); * Diferencias estadísticamente significativas con el grupo de buena respuesta (p<0.05); † Diferencias estadísticamente significativas con el grupo de respuesta moderada (p<0.05); IMC: Índice de masa corporal; Colesterol-HDL: Colesterol unido a lipoproteína de alta densidad; Colesterol-LDL: Colesterol unido a lipoproteína de baja densidad; GOT: Transaminasa glutámico oxalacética; GPT: Transaminasa glutámico pirúvica; Log CV: Logaritmo de Carga viral; ARV: Antirretrovirales; IP: Inhibidores de la Proteasa; NRTI: Inhibidores de la Transcriptasa Inversa Análogos de Nucleósidos; NNRTI: Inhibidores de la Transcriptasa Inversa No Análogos de Nucleósido; TAR: Tratamiento antirretroviral; LPV: lopinavir; PRAMS: Mutaciones asociadas a la proteasa; LMS: Score de mutaciones de lopinavir; TAM: Mutaciones asociadas a los análogos de la timidina)

Resistencias primarias: I47A 46L/I 48M/V 50V 54T/V/A/M 82A/F/T/S; Resistencias 2^a: 10I/F 16E 20M/I 32I 33F 34Q 43T 47V 58E 63T 73T 74S 89M/I 90M; PRAMS: D30N G48V V82A/F/T/S I84V L90M; LSM: L10F/I/R/V K20M/R L24I M46I/L F53L I54L/T/V L63P A71I/L/T/V V82A/F/T I84V L90M; TAMS: 41L 67N 70R 210W 215F/Y 219E/Q/R/S/N.

Se compararon las variaciones en las características básicas medidas y las diferencias existentes en cada grupo de respuesta a los 12 y 42 meses. Los resultados obtenidos se resumen en la Tabla 15 y Tabla 16. Al año de seguimiento, el grupo de niños con mala respuesta aun tenía recuentos de células T CD4+ más bajos y CV plasmáticas y recuentos de células T CD8+ más altas que el grupo de niños con buena respuesta. Entre los niños con una respuesta moderada también fue inferior el recuento de linfocitos T CD4+ comparado con el grupo de buenos respondedores. Además, la cifra de linfocitos T CD8+ en este grupo fue también más alta que en el grupo de buenos respondedores.

A los 42 meses de seguimiento, el grupo de niños con mala respuesta tenía recuentos de linfocitos T CD4+ más bajos acompañados de recuentos T CD8+ y CV plasmáticas más altas que el grupo de niños con buena respuesta. Además las cifras de ambos tipos de colesterol fueron más bajas que en el grupo de buena respuesta. Así mismo, los niños con peor evolución tenían un Z-score de peso más bajo. En los niños con una respuesta moderada también se observaron diferencias estadísticamente significativas en sus recuentos más bajos de células T CD4+ acompañados de cifras más altas de células T CD8+ y CV plasmáticas más elevadas que en aquellos niños cuya evolución fue definida como buena.

Tabla 15. Características a los 12 meses de seguimiento según la respuesta virológica en TARGA de rescate que incluía LPV/r. Se incluyen las características basales del total de la población así como de los diferentes grupos comparándolas entre sí.

Característica	Buena respuesta	Respuesta moderada	Mala respuesta	TOTAL
N	27	12	13	52
Z-Score Peso	-0.6 (-0.8; 0.1)	-0.9 (-1.6; -0.3)	-0.7 (-1.3; -0.6)	-0.6 (-1.0; -0.1)
Z-Score Talla	-0.5 (-1.0; 0)	-0.8 (-2.2; 0.3)	-1.5 (-1.7; -0.4)	-0.7 (-1.7; 0)
IMC	16.8 (15.5; 20.3)	15.9 (15.0; 17.6)	16.8 (14.9; 18.3)	16.5 (15.2; 18.6)
Colesterol total	204 (173; 232)	176 (161; 190)	204 (160; 223)	193 (167; 226)
Colesterol-LDL	110 (70; 139)	92 (79; 130)	124 (101; 168)	110 (83; 138)
Colesterol-HDL	56 (48; 59)	52 (41; 62)	36 (26; 51) *	53 (45; 58)
Triglicéridos	132 (81; 216)	135 (97; 188)	140 (107; 195)	134 (98; 195)
GOT	28 (19; 41)	27 (23; 38)	36 (34; 50)	29 (21; 40)
GPT	19 (14; 28)	24 (16; 31)	28 (19; 39)	23 (15; 31)
CD4%	31 (28; 35)	24 (16; 27) *	23 (15; 28) *	27 (20; 32.)
CD8%	36 (32; 45)	49 (39; 51) *	54 (39; 59) *	44 (33; 53)
Log₁₀CV	2.60 (2.60; 2.61)	3.11 (2.60; 4.03)	4.05 (3.28; 5.03) *	2.60 (2.60; 4.01)

(Mediana (Percentil₂₅; Percentil₇₅); ¹Freceuncia (porcentaje); * Diferencias estadísticamente significativas con el grupo de buena respuesta (p<0.05); † Diferencias estadísticamente significativas con el grupo de respuesta moderada (p<0.05); IMC: Índice de masa corporal; Colesterol-HDL: Colesterol unido a lipoproteína de alta densidad; Colesterol-LDL: Colesterol unido a lipoproteína de baja densidad; GOT: Transaminasa glutámico oxalacética; GPT: Transaminasa glutámico pirúvica; Log CV: Logaritmo de Carga viral).

Tabla 16. Características a los 42 meses de seguimiento según la respuesta virológica en la cohorte de 65 niños con infección VIH que comenzaron una línea TARGA de rescate que incluía LPV/r. Se incluyen las características básales del total de la población así como de los diferentes grupos comparándolas entre sí.

Característica	Buena respuesta	Respuesta moderada	Mala respuesta	TOTAL
N	21	7	8	36
Z-Score Peso	-0.2 (-0.5; 0.6)	-0.5 (-1.4; 1.0)	-1.0 (-1.2; -0.6) *	-0.3 (-1.0; 0.4)
Z-Score Talla	-0.1 (-0.9; 0.7)	-0.4 (-1.7; 0.4)	-0.9 (-1.3; -0.1)	-0.5 (-1.1; 0.7)
IMC	18.8 (16.3; 22.8)	16.6 (16.2; 20.5)	16.2 (14.7; 19.9)	17.2 (15.9; 19.8)
Colesterol total (mg/dl)	195 (163; 218)	185 (154; 200)	150 (118; 281)	178 (155; 213)
Colesterol-LDL (mg/dl)	105 (82; 137)	108 (79; 118)	29 (17; 89) *	98 (74; 125)
Colesterol-HDL(mg/dl)	48 (43; 61)	47 (33; 53)	30 (16; 43) *	46 (39; 54)
Triglicéridos (mg/dl)	139 (96; 183)	159 (124; 197)	210 (95; 352)	159 (97; 242)
GOT (UI/L)	27 (19; 54)	30 (22; 46)	39 (27; 51)	27 (20; 46)
GPT (UI/L)	23 (17; 46)	20 (12; 30)	29 (25; 41)	22 (18; 33)
Células T CD4+%	35 (30; 41)	26 (15; 34) *	17 (7; 23) *	33 (23; 38)
Células T CD8+%	35 (27; 46)	59 (44; 69) *	54 (40; 65) *	40 (34; 54)
Log₁₀CV	2.60 (2.60; 2.60)	3.93 (3.63; 4.17) *	4.61 (4.12; 5.00) * †	2.60 (2.60; 4.01)

(Mediana (Percentil₂₅; Percentil₇₅); ¹Freceuncia (porcentaje); * Diferencias estadísticamente significativas con el grupo de buena respuesta (p<0.05); † Diferencias estadísticamente significativas con el grupo de respuesta moderada (p<0.05); IMC: Índice de masa corporal; Colesterol-HDL: Colesterol unido a lipoproteína de alta densidad; Colesterol-LDL: Colesterol unido a lipoproteína de baja densidad; GOT: Transaminasa glutámico oxalacética; GPT: Transaminasa glutámico pirúvica; Log CV: Logaritmo de Carga viral).

4.5. ANÁLISIS DE LAS MUTACIONES EN EL GEN DE LA RETROTRANSCRIPTASA Y POTEASA DEL VIH-1 EN UNA COHORTE DE NIÑOS INFECTADOS POR EL VIH-1 CON UNA PAUTA TARGA DE RESCATE QUE INCLUYE LPV/R

4.5.1. DESCRIPCIÓN DE LOS GENOTIPOS DE LA RETROTRANSCRIPTASA Y POTEASA DEL VIH-1 EN EL MOMENTO BASAL

En el análisis de las mutaciones en el momento basal en la cohorte de niños infectados por el VIH-1 que habían comenzado una pauta TARGA con LPV/r, se incluyeron a los pacientes que cumplieran lo siguientes criterios:

- Comenzar una pauta TARGA de rescate con LPV/r por primera vez, tras el empleo de uno o más IP previamente.
- Tener una carga viral plasmática inicial $> 3 \text{ Log}_{10}$.
- Disponer de $> 95\%$ de todas las medidas de CV durante el seguimiento.
- Tener un seguimiento mínimo de 12 meses.
- Tener un test genotípico de resistencias cuando se inicio el tratamiento con LPV/r. Aquellos test realizados hasta 6 meses previos al inicio del estudio también se incluyeron siempre y cuando los pacientes no hubiesen variado el TAR durante ese tiempo. Los test realizados en los primeros 6 meses tras el inicio de TARGA con LPV/r también fueron aceptados siempre que los pacientes hubiesen mantenido $\text{CV} > 5 \text{ Log}_{10}$ durante ese período.

Todos los criterios de inclusión eran cumplidos por 43 pacientes. La frecuencia de todas las mutaciones de la RT y PR halladas en el momento basal en los 43 niños se resumen en la Tabla 17. Dentro de las mutaciones en la RT asociadas con resistencia a los inhibidores análogos de nucleósido y nucleósido más prevalentes destacaban las TAMs: M41L: 53,5%; D67N: 51,2%; T215Y: 48,9%; T215F: 16,3%; L210W: 41,9%; K70R: 27,9% y K219E/Q: 23,3%. Dentro de las TAMs la vía 41/210 asociada a la mutación T215Y fue más frecuente que la vía 70/219 asociada a la posición T215F. La mutación M184V, que confiere un alto nivel de resistencia a 3TC y FTC, fue hallada en 27,9% de los pacientes. La mutación K65R fue encontrada en 5 pacientes (11,6%) que no habían tomado previamente TDF. En 2 pacientes (4,7%) se aisló el complejo de multirresistencia Q151M en el momento basal. Respecto a las mutaciones en la RT asociadas con resistencia a los inhibidores no análogos de nucleósido, la más prevalente fue la K103N encontrada en 51,2% de los pacientes.

En el análisis de las mutaciones en el gen de la proteasa asociadas con resistencia a los inhibidores de la proteasa fueron más prevalentes las mutaciones secundarias o compensatorias (según la calificación *IAS-USA panel*) que las primarias. La frecuencia de las mutaciones primarias halladas en la cohorte de 43 niños fue: L90M: 48,8%; I54V: 39,50%; V82A: 37,1%; D30N: 18,6%; I84V: 18,60%; M46L 18,6%; N88D/S: 18,6% y G48V: 2,3%. Las mutaciones secundarias más prevalentes fueron: L63A/P: 74,5%; L10I/V/F: 62,9%; A71T/V: 41,9%; M36I /V: 34,9%; V77I: 30,2% y K20M/R: 23,2%.

En los 43 niños de los que se dispuso de un test genotípico de resistencias en el momento basal la mediana del tiempo previo de TAR fue de 70,7 meses (44,2- 100,6). La mediana del tiempo previo con NRTI fue de 70,7 meses (44,2- 100,6), con NNRTI fue de 15,6 meses (0- 25,6) y con IP 38,6 meses (28,9- 46,4). La mediana del número previo de IP que los 43 niños habían tomada antes de comenzar el TARGA de rescate con LPV/r fue 2 (1- 3). La mediana del número previo de líneas TARGA que 43 pacientes habían seguido fue 3 (2-4).

El tiempo previo que los 43 niños habían tomado cada fármaco ARV así como el porcentaje de niños que habían tomado cada fármaco antes del inicio del TARGA de rescate con LPV/r, se resumen en Tabla 18. El IP que había sido tomado por más niños antes del inicio del TARGA de rescate con LPV/r fue nelfinavir en un 42% de los pacientes seguido de indinavir en un 32% de los niños.

Tabla 17. Mutaciones halladas en el momento basal en gen de la transcriptasa inversa y proteasa en la cohorte de 43 niños infectados por el VIH-1 con TARGA que contiene LPV/r.

Mutación	%	N	Mutación	%	N	Mutación	%	N	Mutación	%	N
A 62 V	2,3	1	M 184 V	27,9	12	K 122 E	2,3	1	K 20 M/R	23,2	10
D 113 E	2,3	1	M 41 L	53,5	23	L 100 I	18,6	8	L 10 I/F/V	62,9	27
D 67 N	51,2	22	Q 151 M	4,7	2	V 106 A	4,7	2	L 24 I	4,7	2
E 138 Q	2,3	1	R 211 K	37,2	16	V 108 I	4,7	2	L 33 F	14,0	6
E 203 G	2,3	1	S 68 G	7,0	3	Y 188 C/H/L	27,9	12	L 63 A/P	74,5	32
E 44 D/G	4,6	2	T 215 F	16,3	7				L 90 M	48,8	21
F 116 Y	4,7	2	T 215 Y	48,9	21	A 71 T/V	41,9	18	M 36 I/V	34,9	15
F 77 L	2,3	1	T 69 A/D/N	25,5	11	D 30 N	18,6	8	M 46 F	2,3	1
G 196 E	16,3	7	V 118 I	9,3	4	D 60 E	11,6	5	M 46 L	18,6	8
H 208 Y	14,0	6	V 189 I	2,3	1	E 35 D	2,3	1	G 73 S	2,3	1
K 166 R	7,0	3	V 75 I/M	9,4	4	F 53 L	2,3	1	N 88 D/S	18,6	8
K 219 E/Q	23,3	10	W 88 C	2,3	1	G 16 E	2,3	1	R 41 K	2,3	1
K 43 R/Q	4,6	2	A 98 G/S	4,6	2	G 48 V	2,3	1	R 57 K	2,3	1
K 65 R	11,6	5	F 227 L	4,7	2	G 73 S	11,6	5	V 32 I	2,3	1
K 70 R	27,9	12	G 190 A/S	16,3	7	I 54 V	39,5	17	V 77 I	30,2	13
L 210 W	41,9	18	K 101 E/Q	6,9	3	I 64 V	7,0	3	V 82 A	37,1	16
L 228 R	9,3	4	K 103 N	51,2	22	I 84 V	18,6	8			
L 74 I/V	21,0	9	K 103 R	2,3	1	I 93 L	4,7	2			

En negrita se han señalado las mutaciones más relevantes con su % y frecuencia. Primero se enumeran las mutaciones de la RT y luego las de la proteasa.

Tabla 18. Fármacos ARV que los 43 niños habían tomado previamente al inicio del TARGA de rescate con LPV/r, así como su frecuencia y duración.

Fármaco	% Pacientes	N	Mediana (P ₂₅ - P ₇₅)
Zidovudina	53,5	23	84,9 (47,6- 110,9)
Lamivudina	55,8	24	46,7 (37,8- 52,6)
Estavudina	58,1	25	42,7 (22,4- 49,3)
Didanosina	48,8	21	57,8 (44,4- 101,9)
Zalcitabina	13,9	6	62,6 (59,3- 68,9)
Abacavir	13,9	6	9,8 (4,1- 21,7)
Ritonavir	32,6	14	45,4 (23,0- 59,4)
Saquinavir	18,6	8	25,5 (15,8- 50,6)
Indinavir	34,9	15	34,9 (28,6- 41,5)
Nelfinavir	41,9	18	27,4 (20,6- 32,5)
Amprenavir	4,6	2	19,7 (5,3- 34,1)
Nevirapina	27,9	12	27,8 (11,3- 30,6)
Efavirenz	32,6	14	17,3 (11,1- 21,9)

4.5.2. UTILIDAD DE LA INTERPRETACIÓN DEL GENOTIPO BASAL PARA PREDECIR LA RESPUESTA VIROLÓGICA EN UNA COHORTE DE NIÑOS INFECTADOS POR EL VIH-1 CON UN RÉGIMEN TARGA DE RESCATE QUE CONTIENE LPV/R

Se evaluó la utilidad de diferentes métodos de interpretación del genotipo basal para predecir la respuesta virológica de los pacientes. Esta última fue definida según los mismos criterios explicados en el apartado 4.4 y por tanto la población de 43 niños que habían comenzado un TARGA de rescate con LPV/r con un seguimiento mínimo de 12 meses y que disponían de un test genotípico basal fue dividida en 3 subgrupos: grupo de buenos respondedores compuesto por 19 pacientes (44,2%); grupo con respuesta moderada con 8 pacientes (18,6%) y grupo de malos respondedores con 16 pacientes (37,2%).

4.5.2.1. INTERPRETACIÓN DEL GENOTIPO BASAL SEGÚN EL PROGRAMA *HIVDB: GENOTYPIC RESISTANCE INTERPRETATION ALGORITHM* DE LA UNIVERSIDAD DE STANFORD

El genotipo del VIH aislado en nuestros pacientes en el momento basal fue interpretado según la base de datos para secuencias de proteasa y RT de la Universidad de Stanford. Se empleó el programa HIVdb: *genotypic resistance interpretation algorithm* que tras introducir la lista completa de las mutaciones encontradas en los 43 niños en el gen de la RT y proteasa otorgaba a cada fármaco ARV una estimación de la sensibilidad que la cuasiespecie viral podría tener a ese ARV. En este algoritmo de interpretación la resistencia esperada a cada fármaco ARV podía ser clasificada como: resistencia de alto nivel; resistencia intermedia; resistencia de bajo nivel; probable resistencia de bajo nivel y ausencia de resistencia. En el posterior análisis de los datos se consideró a las categorías: resistencia de bajo nivel y probable resistencia de bajo nivel como una sola categoría. El sistema de interpretación de la Universidad de Stanford empleado sólo otorgaba información sobre los siguientes ARV: 3TC, ABC, AZT, d4T, ddI, FTC, TDF, EFV, NVP, ATV, DRV, FPV, IDV, LPV, NFV, SQV y TPV siempre y cuando existiera alguna secuencia similar en su base de datos a la cuasiespecie investigada.

Se recopilaron los datos relativos a la susceptibilidad a LPV/r según el algoritmo de la Universidad de Stanford, en la cohorte de niños infectados por VIH-1 en el momento de inicio del TARGA de rescate con LPV/r. En los 43 niños; 11 tenían cuasiespecies

interpretadas como sensibles al LPV/r, 16 tenían resistencia de bajo nivel al LPV/r, 15 tenían resistencias intermedia al LPV/r y en 1 paciente se interpretó que su cuasiespecie tenía resistencia de alto nivel en el momento basal.

Se comparó la evolución virológica de los pacientes durante el seguimiento según la sensibilidad al LPV/r estimada por el algoritmo de la Universidad de Stanford. Entre los 11 pacientes que comenzaron el TARGA con LPV/r siendo este fármaco considerado como sensible según el algoritmo empleado; 7 (63,6%) tuvieron buena respuesta virológica durante el seguimiento, 2 (18,2%) una respuesta moderada y 2 (18,2%) una mala respuesta en el control de la CV durante el seguimiento. En el grupo de 16 pacientes que en el momento basal se consideró según el algoritmo empleado que tenían resistencia de bajo nivel a LPV/r; 8 (50,0%) tuvieron una buena respuesta virológica, 4 (25,0%) una respuesta moderada y 4 (25,0%) una mal control de la CV durante el seguimiento. En el grupo de 15 pacientes que comenzaron un TARGA con LPV/r con una resistencia intermedia a dicho fármaco, según el algoritmo empleado; 4 (26,7%) tuvieron una buena respuesta, 2 (13,3%) una respuesta intermedia y 9 (60%) una mala respuesta. Por último, el niño que comenzó un TARGA con LPV/r siendo la resistencia a éste fármaco considerada como de alto nivel logró un mal control de la supresión viral durante el seguimiento.

Al comparar los grupos se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p=0,010$) ya que cuanto menor fue la susceptibilidad al LPV/r según el algoritmo de la Universidad de Stanford, peor fue la respuesta virológica observada en los pacientes.

4.5.2.2. INTERPRETACIÓN DEL GENOTIPO BASAL SEGÚN LAS GUÍAS DE LA IAS-USA PANEL

En el grupo de los 43 niños que comenzaron un TARGA con LPV/r y que tenían un genotipo en el momento basal, se analizó la utilidad de emplear el algoritmo de interpretación de resistencias elaborado por al *IAS-USA panel* para predecir la respuesta virológica de los pacientes (definida de la misma manera que en el apartado anterior) Las recomendaciones de la *IAS-USA panel*, divide a las mutaciones asociadas a LPV/r en primarias: I47A, 46L/I, 48M/V, 50V, 54T/V/A/M y 82A/F/T/S y resistencias secundarias y/o compensatorias: 10I/F, 16E, 20M/I, 32I, 33F, 34Q, 43T, 47V, 58E, 63T, 73T, 74S, 89M/I y 90M.

Se dividieron a los 43 pacientes en 2 grupos: aquellos que en su genotipo basal tenían ≥ 1 mutaciones primarias para LPV/r y aquellos que no tenían ninguna de las

mutaciones primarias. Ningún paciente tuvo en su genotipo basal las mutaciones I47A/V e I50V/L.

La evolución de los 20 pacientes en los que no se halló ninguna mutación primaria específica de LPV/r en el momento basal fue; 13 pacientes (65%) tuvieron una buena respuesta virológica durante el seguimiento, 4 niños (20%) tuvieron una respuesta moderada y 3 niños (15%) consiguieron un mal control de la CV plasmática durante el seguimiento. En el grupo de 23 pacientes que tenían ≥ 1 mutaciones primarias en su genotipo basal la evolución fue; 6 niños (26,1%) tuvieron una buena respuesta virológica, 4 pacientes (17,4%) siguieron una respuesta moderada y 13 niños (56,5%) tuvieron una mala respuesta durante el seguimiento.

Al comparar los grupos se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas ($p=0,012$) ya que la presencia de mutaciones primarias según la *IAS-USA panel* se asociaba a una peor respuesta virológica en la cohorte de 43 niños que siguieron un TARGA de rescate con LPV/r.

4.5.2.3. INTERPRETACIÓN DEL GENOTIPO BASAL SEGÚN EL SCORE DE MUTACIONES ASOCIADAS A LPV/R (LMS)

Se identificaron que mutaciones presentes en el *score* de mutaciones asociadas a LPV/r (*LPV mutation score* (LMS); L10F/I/R/V, K20M/R, L24I, M46I/L, F53L, I54L/T/V, L63P, A71I/L/T/V, V82A/F/T, I84V y L90M) se asociaban a una mala respuesta virológica en la cohorte de 43 niños que comenzaron un TARGA de rescate con LPV/r.

Solo 2 mutaciones en el momento basal se asociaban a una mala respuesta virológica en los 43 niños. La I54V ($p= 0,005$) y la V82A ($p= 0,044$). Aunque no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas respecto a la mutación K20R/M ($p= 0,059$) se aisló en un 70% de los pacientes con mala respuesta virológica frente al 20% de los niños con buena respuesta virológica que presentaban esta mutación.

La influencia de la acumulación de mutaciones pertenecientes al LMS para predecir respuesta en la cohorte de 43 niños que comenzaron un TARGA de rescate con LPV/r ha sido expuesta en el apartado 4.4.

4.5.3. VARIACIÓN DE LAS MUTACIONES DE RESISTENCIA EN EL GEN DE LA PROTEASA HALLADAS DURANTE EL SEGUIMIENTO CON UNA PAUTA TARGA DE RESCATE QUE CONTIENE LPV/R

En 32 pacientes se dispuso de uno o varios test de resistencias genotípicos durante el seguimiento. De ellos, 16 pertenecían al grupo de niños con un mal control de la CV plasmática durante el seguimiento y en este subgrupo se estudio la variación de las mutaciones halladas en el gen de la proteasa durante el tiempo que los niños mantuvieron el TARGA con LPV/r. Debido a que el momento de realización de los test de resistencias genotípicos no fue homogéneo en los 16 niños, los resultados se muestran individualmente resumidos en la Tabla 19.

Tabla 19. Variación de las mutaciones en el gen de la proteasa en 16 niños con TARGA con LPV/r y mal control de la CV durante el seguimiento.

Paciente 1	Mutación						
	Tiempo con LPV/r	M46L					
	Basal	X					
	1º año	X					
	5º año	X					
Paciente 2	Mutación						
	Tiempo con LPV/r	I84V	L10I/F/V	L63A/P	L90M		
	Basal	X	X	X	X		
	3º año			X	X		
	4º año			X			
Paciente 3	Mutación						
	Tiempo con LPV/r	A71T/V	I54V	L10I/F/V	L63A/P	M46L	V82A
	Basal	X	X	X	X	X	X
	2º año	X	X	X		X	X
	3º año		X	X	X	X	X
	4º año	X	X	X	X	X	X
Paciente 4	Mutación						
	Tiempo con LPV/r	A71T/V	I54V	I84V	K20M/R	L10I/F/V	L33F
	Basal	X	X	X		X	X
	3º año	X	X	X	X	X	
	4º año	X	X	X	X	X	X
	Mutación						
	Tiempo con LPV/r	L63A/P	L90M	M36I/V	V32I	V82A	
	Basal	X	X	X	X	X	
	3º año	X	X	X	X	X	
		4º año	X	X	X	X	

Paciente 5	Mutación							
	Tiempo con LPV/r	A71T/V	G73S	I54V	I84V	K20M/R	L10I/F/V	
	Basal			X	X	X		
	3º año			X		X	X	
	4º año	X	X	X		X	X	
	Mutación							
	Tiempo con LPV/r	L24I	L33F	L63A/P	M36I/V	V82A		
	Basal				X			
3º año	X	X		X	X			
4º año	X	X	X	X				
Paciente 6	Mutación							
	Tiempo con LPV/r	A71T/V	D60E	I54V	I93L	L10I/F/V	L33F	
	Basal	X	X	X		X		
	2º año	X	X	X	X	X		
	5º año	X	X	X	X	X	X	
	Mutación							
	Tiempo con LPV/r	L63A/P	L90M	R41K	V77I	V82A		
	Basal	X	X		X	X		
2º año	X	X	X	X	X			
5º año	X	X	X	X	X			
Paciente 7	Mutación							
	Tiempo con LPV/r	A71T/V	I93L	L63A/P	L90M	M36I/V	V32I	
	Basal		X		X			
	2º año		X		X	X	X	
	3º año	X	X	X	X	X	X	
	4º año	X	X	X	X		X	
Paciente 8	Mutación							
	Tiempo con LPV/r	A71T/V	D30N	L10I/F/V	L63A/P	M36I/V	W88C	
	Basal		X		X	X	X	
	1º año		X			X	X	
	2º año		X		X	X	X	
	3º año	X		X	X	X		
	4º año	X	X	X	X	X		
Paciente 9	Mutación							
	Tiempo con LPV/r	A71T/V	E35D	G73S	I54V	K20M/R	L10I/F/V	L33F
	Basal	X			X	X	X	
	1º año	X		X	X	X	X	X
	4º año	X		X	X	X	X	X
	5º año	X	X	X	X	X	X	X
	Mutación							
	Tiempo con LPV/r	L63A/P	L90M	M36I/V	M46L	R57K	V82A	
	Basal	X	X	X	X		X	
	1º año	X	X	X	X		X	
4º año	X	X	X	X		X		
5º año	X	X	X	X	X	X		

Paciente 10	Mutación										
	Tiempo con LPV/r	D60E	E35D	I54V	I84V	I93L	K20M/R	L10I/F/V			
	Basal	X		X	X			X			
	1º año	X	X	X	X	X		X			
	2º año			X	X		X				
	Mutación										
	Tiempo con LPV/r	L33F	L63A/P	L90M	M36I/V	M46L	V77I				
Paciente 11	Basal		X	X		X	X				
	1º año	X	X	X	X		X				
	2º año		X	X	X						
	3º año										
	4º año										
	Mutación										
	Tiempo con LPV/r	A71T/V	F53L	L10I/F/V	L33F	L63A/P	L90M	V82A			
Paciente 12	Basal		X	X	X	X	X	X			
	2º año	X	X	X	X	X	X	X			
	3º año	X	X	X	X	X	X	X			
	4º año	X	X	X	X	X	X	X			
	Mutación										
	Tiempo con LPV/r	A71T/V	E35D	I54V	K20M/R	K43R	K55R	L10I/F/V			
	Basal	X	X	X	X	X	X	X			
Paciente 13	1º año	X	X	X	X		X	X			
	2º año	X		X	X			X			
	Mutación										
	Tiempo con LPV/r	L24I	L63A/P	M36I/V	M46L	N37E/S	R57K	V82A			
	Basal	X	X	X		X	X	X			
	1º año		X	X	X	X	X				
	2º año	X		X	X						
Paciente 14	Mutación										
	Tiempo LPV/r	E35D	I54V	K20M/R	L10I/F/V	L63A/P	L90M	M36I/V	M46L	R41K	V82A
	Basal		X	X	X	X	X	X	X		X
	4º año	X	X	X	X	X	X	X		X	X
Paciente 15	Mutación										
	Tiempo con LPV/r	A71T/V	E35D	I54V	K20M/R	L10I/F/V	L24I	L63A/P	M36I/V	V82A	
	Basal	X		X	X	X	X	X	X	X	
	2º año	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
	4º año	X		X	X	X	X	X	X		
	5º año	X	X	X	X	X	X	X	X		
Paciente 16	Mutación										
	Tiempo con LPV/r	A71T/V	G16E	I54V	K20M/R	L10I/F/V	L63A/P	L90M	M36I/V	V82A	
	Basal	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
	4º año	X		X	X	X	X	X	X	X	
Paciente 17	Mutación										
	Tiempo con LPV/r	A71T/V	G48V	I54V	K20M/R	L10I/F/V	L63A/P	L90M	M36I/V	V82A	
	Basal	X	X	X	X		X		X	X	
	2º año	X		X		X	X	X	X	X	

Durante el seguimiento, en 2 de los 16 niños (pacientes 1 y 3) no se modifica el genotipo de la proteasa secuenciado a los 4 y 5 años del inicio del TARGA con LPV/r. En 3 niños (pacientes 2, 12 y 15) disminuyó el número total de mutaciones halladas en el gen de la proteasa al final del seguimiento. En 2 niños (pacientes 14 y 16) no varió la cifra total de mutaciones encontradas aunque sí variaron las posiciones en las que se detectan mutaciones al final del seguimiento. Por último, en 9 niños (pacientes 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 y 13) aumentó el número total de mutaciones en el gen de la proteasa durante el tiempo que los pacientes mantienen el TARGA con LPV/r. En 7 de estos 9 niños aparecieron mutaciones secundarias según la clasificación de la *IAS-USA panel* en las posiciones 10, 20, 32, 33, 63 y 73 del gen de la proteasa. La mutación secundaria o compensatoria que con más frecuencia apareció en los 16 niños con TARGA con LPV/r y mal control de la replicación viral durante el seguimiento fue la L33F en 4 pacientes seguida de las mutaciones en las posiciones 10, 20 y 63 que aparecieron cada una en 2 pacientes durante el TARGA con LPV/r. Solo se detectó la aparición de una mutación primaria nueva según la *IAS-USA panel*, en la posición 82 del gen de la proteasa, en un niño (paciente 5) en el transcurso del TARGA con LPV/r con mal control de la replicación viral.

También, se comparó durante el seguimiento la variación en la sensibilidad al LPV/r estimada según el algoritmo de la Universidad de Stanford (ver apartado 4.5.2.1) según el control virológico logrado por los 32 niños que comenzaron una pauta TARGA de rescate con LPV/r (la definición del control virológico se ha expuesto en el apartado 4.4). En los 16 niños que mantuvieron una mala supresión de la replicación viral durante el seguimiento, en 8 pacientes aumentó la resistencia LPV/r estimada según el algoritmo de la Universidad de Stanford; en 4 niños la resistencia evolucionó desde baja a intermedia y 4 desde intermedia a alta. En el grupo de 6 pacientes con una respuesta virológica moderada durante el seguimiento en 2 pacientes la estimación de la resistencia a LPV/r progresó desde un nivel bajo hasta un grado intermedio y en 1 paciente en el que no se interpretó resistencia a LPV/r en el momento basal a los 5 meses del tratamiento el resultado del test genotípico realizado fue interpretado como resistencia de alto nivel según el algoritmo de la Universidad de Stanford. En los 10 niños que mantuvieron una buena respuesta virológica durante el seguimiento no hubo variaciones respecto a la sensibilidad estimada a LPV/r según dicho algoritmo.

5. *DISCUSIÓN*

Desde el inicio de la pandemia por el VIH, se han descrito las devastadoras consecuencias que la infección ha tenido en los niños. Esto es debido, no solo a la posibilidad del contagio por vía vertical, sino también, al hecho de que más de 15 millones de niños en la actualidad son huérfanos debidos a esta infección, viviendo la mayoría en países donde menos del 10% reciben ayuda⁷³. El desarrollo de los fármacos ARV ha conseguido revertir este dramático escenario, y en aquellos países con acceso a la medicación, la infección por el VIH sigue un curso similar a una enfermedad crónica, donde son los efectos secundarios de los fármacos antirretrovirales los que generalmente ocasionan mayores complicaciones en los pacientes²⁻⁴.

La imposibilidad de erradicar el virus actualmente, así como los limitados resultados que los estudios con interrupciones estructuradas del tratamiento han revelado, ponen de manifiesto la necesidad de tratamientos prolongados^{66, 78}. Por lo que son precisos estudios a largo plazo, como el presentado en esta Memoria, que no solo evalúen la potencia virológica o la recuperación inmune en los primeros meses, sino que contribuyan a optimizar una terapia, que en la práctica clínica habitual se ha de mantener durante años^{260, 295}.

Además, la mayoría de los datos publicados sobre esta infección, proceden de ensayos clínicos prospectivos, en los que se controlan muchos factores, como la formación de los grupos de estudio, el cumplimiento del tratamiento, motivación de los pacientes, etc. Estos estudios se realizan bajo condiciones muy restrictivas, y esto puede ocasionar una limitación importante en la generalización de los resultados a la población general de niños VIH²⁹⁶.

En el caso de los estudios observacionales, no se controlan estos factores, pero el tiempo de seguimiento es muy elevado y además representan lo que sucede en la clínica habitual o vida real²⁹⁶. Los estudios observacionales y de cohortes, como el que se presenta en esta Memoria, complementa a los resultados obtenidos de los ensayos clínicos, cuyo objetivo fundamental es determinar la eficacia de las nuevas terapias²⁹⁷. El análisis observacional de esta población pediátrica permite definir cual es el impacto en el ámbito poblacional fuera del riguroso contexto del ensayo clínico. Una de las características más atrayentes de los ensayos clínicos es la posibilidad de comparar pacientes con distintas pautas de tratamiento, y esto es posible porque los pacientes se distribuyen en distintos grupos de forma “aleatorizada” repartiendo los factores pronósticos por igual entre los distintos grupos²⁹⁸.

Sin embargo, el problema de los estudios de cohortes es que los grupos de pacientes con distintos tratamientos antirretrovirales no son comparables, ya que determinados niños reciben una pauta concreta de terapia antirretroviral en vez de otra dependiendo de su porcentaje de células T CD4⁺, CV o características clínicas. En los estudios de cohortes no se puede concluir qué la terapia antirretroviral es más eficaz; no obstante, si es posible y probablemente tan importante, determinar la efectividad de las distintas terapias antirretrovirales en el ámbito poblacional²⁹⁹.

En esta Memoria, mediante un estudio observacional, retrospectivo de cohortes, se determina la efectividad del TARGA con LPV/r sobre los dos parámetros de laboratorio utilizados en la valoración de la respuesta a la terapia antirretroviral (CV y células T CD4⁺). Además se evalúan la tolerancia a dicho fármaco y el efecto que las mutaciones en el gen de la proteasa pueden tener sobre la respuesta de los pacientes.

Muchos estudios observacionales, ya han documentado la efectividad de los TARGA con LPV/r en adultos^{255, 264} y niños, tanto como terapia de inicio como de rescate^{167, 263, 267}. Incluso se han comunicado resultados obtenidos con pacientes adultos tratados con LPV/r durante 6 años²⁶⁰. No obstante, no hay ningún estudio realizado a nivel poblacional sobre el uso de LPV/r durante tiempos tan prolongados en niños infectados por el VIH. Con la colaboración de 8 hospitales Españoles, se ha llevado a cabo este Memoria para evaluar el empleo de LPV/r en niños, ya que la infección pediátrica por el VIH tiene rasgos patogénicos y virales únicos que hacen que no sea posible la extrapolación completa de los datos obtenidos en los estudios realizados en adultos, requiriendo un análisis específico en esta población⁹⁹.

En esta Memoria, se ha dividido el análisis clínico-epidemiológico en 4 apartados para describir detalladamente la evolución clínica de la cohorte de 77 niños infectados por el VIH que comenzaron una pauta TARGA con LPV/r con un seguimiento mínimo de 12 meses. En los 2 últimos apartados (4.3 y 4.4) se han incluido exclusivamente los pacientes que habían comenzado el TARGA con LPV/r tras un fracaso virológico. No obstante, los tamaños muestrales (77 pacientes en los apartados 4.1 y 4.2 y 69 y 65 pacientes en los apartados 4.3 y 4.4 respectivamente) y las características básales de las poblaciones son similares, por lo que los resultados de los 4 primeros apartados de esta Memoria se discutirán de manera conjunta.

La población de estudio tenía una edad media aproximada de 10 años en el momento de inicio del estudio, mientras que la infección había sido diagnosticada de media a los 2 años de vida, por lo que se trataba de una población con una extensa historia de tratamiento antirretroviral (6 años de media), con un 50% de los pacientes con un

estadio C y/o 3 de la clasificación del CDC y con fracaso virológico en más de un 90% de los niños (Figura 9).

Las recomendaciones de TAR han variado considerablemente en los últimos 15 años gracias a la experiencia acumulada y al desarrollo de nuevos fármacos ARV^{66, 78, 99}. La introducción secuencial de los ARV en pediatría ha seguido un esquema similar, aunque a un ritmo más retardado, que el descrito en adultos, por eso, los IP eran los fármacos con menor tiempo medio de utilización previa en la cohorte de niños estudiada (37 meses) en comparación por ejemplo con los NRTI (72 meses). En el momento de inclusión en el estudio solo existían 4 IP cuyo uso estuviera aprobado en niños; NFV, SQV, indinavir y ritonavir³⁰⁰. No obstante fue LPV/r el primero en incorporar la ventaja farmacocinética de una pequeña dosis de ritonavir en su molécula, lo que consigue niveles hasta 100 veces superiores a al IC₅₀ del virus salvaje²⁵³. A pesar del menor número de ARV disponibles antes del inicio del estudio, casi un 50% de los pacientes habían tomado 3 regímenes TARGA previos, por lo que no sólo era una población pretratada, sino con múltiples fracasos terapéuticos previos, lo que explica en parte que en menos del 65% de los pacientes se pudiera combinar LPV/r con uno o más fármacos nuevos en el TAR (Figura 10).

Los buenos resultados publicados en el año 2002 por el grupo PENTA con la combinación ABC + 3TC¹⁶⁰, modificaron las recomendaciones españolas de TAR en la infancia proponiendo al ABC como NRTI de primera línea^{66, 99}. En la cohorte estudiada fue precisamente el ABC el fármaco nuevo más empleado, seguido de EFV cuyo uso en >3 años también ha demostrado gran eficacia^{78, 150}. No obstante, al analizar los fármacos que junto al LPV/r formaban el TARGA, sin tener en cuenta si los pacientes los habían recibido anteriormente, se observaba como el d4T fue empleado en casi un 70% de los niños en los regímenes TARGA en el momento basal del estudio. Este hecho tienen gran importancia a la hora de interpretar las cifras de lipodistrofia en la cohorte, ya que en los últimos años, múltiples estudios también han relacionado a los NRTI, especialmente a la estavudina o d4T, en la génesis de la distribución anómala de la grasa corporal, fundamentalmente en la lipoatrofia^{178, 181, 182}.

El recuento medio de porcentaje de células T CD4+ al inicio del estudio en nuestra población fue de 22%, lo que se corresponde con una nivel de inmunodeficiencia moderado según el CDC⁶⁰. El alto porcentaje de células CD8+ objetivado en nuestra población al inicio del estudio, también refleja esta inmunodepresión moderada ya que el aumento de este tipo celular predice el descenso de células CD4+ en niños infectados por el VIH^{86, 88, 301}. Además solo 4 de los pacientes iniciaron el estudio con

adecuada supresión de la CV (<400 copias/ml), con una cifra media inicial de CV plasmática en el total de la población de 4,6 Log₁₀ (Tabla 3).

El estado nutricional de los pacientes reflejaba una leve-moderada desnutrición con mayor repercusión en la talla, lo que denota una situación nutricional desfavorable prolongada. La recuperación en el peso y la talla, ha sido objetivada en una corte de niños española tras comenzar una pauta TARGA efectiva³⁰².

El curso más acelerado de la infección VIH descrito en los niños, se ha relacionado con la presencia de CV más altas en la infancia⁹⁵⁻⁹⁷. La presencia de cifras superiores a 1.000.000 copias/ml en los lactantes pequeños recuerda a las observadas en los cuadros de primoinfección de los adultos aunque la capacidad para disminuir espontáneamente la CV plasmática es menor en los niños, lo que también se ha relacionado con la peor respuesta virológica observada en la edad pediátrica, junto a los problemas de adherencia o farmacocinética propios de este grupo de edad⁶⁹. La CV plasmática es además un factor pronóstico de progresión a SIDA antes del inicio de la terapia y, así mismo es un factor fundamental para medir la efectividad de un TAR⁷⁸.

En adultos se han descrito 2 fases en los modelos que explican el descenso de la CV plasmática tras el inicio del TARGA; en las primeras semanas desciende >99% de la CV fundamentalmente debido a la desaparición de partículas virales plasmáticas libres y posteriormente acontece una fase más lenta, que representa la pérdida de células infectadas por el VIH con una vida media prolongada³⁰³. En ausencia de tratamiento, la CV basal y el ritmo de descenso de la CV son un reflejo del ritmo de recambio de partículas virales (*turnover*). La producción y la degradación de las partículas virales determinan el *turnover* viral, donde el número de células susceptibles a la infección y el *fitness* de la cepa viral contribuyan a la producción, mientras que la respuesta inmunitaria del huésped conduce a la eliminación de partículas virales. Cuando el *turnover* es alto, el ritmo de descenso precoz de la CV tras un tratamiento efectivo, también es alto y viceversa, cuando el *turnover* es bajo, el ritmo de descenso observado durante las primeras semanas también es bajo⁶⁸.

Como se ha comentado previamente, en niños pequeños las CV plasmáticas son muy elevadas y sin embargo, existen pocos estudios que evalúen la dinámica en el descenso de la CV en la infancia. En un estudio realizado por Luzuriaga et al. en 16 niños, se evidencio como el ritmo de descenso de la CV era menor en los < 3 meses que en los niños con edades comprendidas entre los 3 meses y 2 años, lo que supone que el inicio precoz de las pautas TARGA en la infancia, pueden no acompañarse de

una supresión viral completa en los primeros meses de vida, posibilitando el desarrollo de resistencias³⁰⁴. No obstante, Bekker et al. han descrito recientemente una dinámica de supresión de la CV similar a la descrita en adultos en un grupo de 39 niños con una edad media de 4,4 años. Además, en el grupo estudiado por Bekker, ni la CV basal ni la edad fueron factores pronóstico para alcanzar CV <400 copias/ml a las 48 semanas. No obstante, la edad si se correlacionó significativamente con la CV basal⁶⁸. Estos resultados difieren de los publicados por Walker et al. en un amplio estudio pediátrico que incluyó a 256 pacientes, donde la edad y la CV basal si se correlacionaban con la supresión viral obtenida³⁰⁵. La relación existente entre CV más altas y menor edad, complican la interpretación de estos resultados según Bekker et al.

Además, la supresión viral mantenida pasadas las primeras semanas de tratamiento difiere de la observada tras el inicio inmediato del TARGA. El éxito a largo plazo en las pautas TARGA depende de más factores como; la adherencia de los pacientes, la farmacocinética, así como de la presencia de mutaciones que pueden limitar la respuesta obtenida⁶⁸.

En nuestra cohorte se objetivó un rápido descenso de la CV en los 3 primeros meses del TARGA, especialmente en el primer mes, manteniéndose posteriormente la cifra de CV plasmática en los niños, entre 3-3,5 Log₁₀ (Figura 11). Estos resultados son inferiores a los comunicados por Landay et al. en 63 pacientes adultos, que tras 6 años de tratamiento con LPV/r + AZT + 3TC, 62 tenían CV <50 copias/ml²⁶⁰. No obstante, como se ha comentado anteriormente, es común evidenciar peores tasas de supresión virológica en niños⁷⁸ y además el estudio de Landay et al. solo incluía pacientes *naïve* mientras que nuestra población mayoritariamente, se componía de niños pretratados con fracaso virológico.

Al analizar qué factores pronósticos influían en una buena supresión de la CV durante el seguimiento en nuestra población, fue el recuento de células T CD4+ el factor más importante para predecir un adecuado control de la replicación viral durante el seguimiento. La relevancia de la situación inmunológica en el control de la replicación viral de los pacientes incluidos en nuestra cohorte, se ha demostrado en todos los estudios incluidos en esta Memoria.

Al estudiar la importancia del recuento de células T CD4+ en la rapidez con que la que se alcanzaba CV < 400 copias/ml, aunque las diferencias observadas no fueron estadísticamente significativas, en el total de la cohorte, se objetivó una clara relación entre la cifra de linfocitos T CD4+ basal y el momento en que se alcanzaba CV <400 copias/ml; de tal forma que cuanto menor era el recuento celular inicial más tiempo

tardaban los pacientes en conseguir CV plasmáticas más bajas; en el grupo con %células T CD4+ <15% se precisaron más de 19 meses para alcanzar CV <400 copias/ml mientras que en el grupo con %células T CD4+ >25% solo fueron necesarios unos 4 meses (Figura 16). La falta de diferencias estadísticamente significativas a pesar de la clara relación observada, podría deberse al reducido tamaño muestral de los grupos comparados.

Al relacionar la supresión de la CV con la adherencia mantenida por los pacientes al LPV/r, tampoco se obtuvieron diferencias significativas, aunque como era de esperar, cuanto mejor fue la adherencia de los pacientes más rápido se consiguió CV < 400 copias/ml; 4 meses en los niños con adherencias >90% durante el seguimiento frente a 6,5 meses en aquellos con <90% de cumplimiento de las dosis prescritas (Figura 17). Las diferencias tan estrechas entre ambos grupos, puede deberse no solo al tamaño muestral, sino también al método de evaluación de la adherencia no homogéneo entre los centros participantes en el estudio. Al tratarse de un estudio retrospectivo, cada médico responsable de los pacientes fue interrogado sobre el cumplimiento a la pauta TARGA con LPV/r y en cada paciente la adherencia global durante el tiempo que se mantuvo en el estudio se resumió en un porcentaje que probablemente no refleje completamente los cambios respecto al cumplimiento que experimentan los pacientes, sobre todo aquellos que se aproximan a la adolescencia. Es probable que el sesgo de memoria de los médicos responsables, haga atribuir a pacientes con adherencias bajas al inicio del tratamiento que fueron posteriormente corregidas, cifras más altas, por lo que las diferencias entre ambos grupos se ven reducidas.

Al considerar exclusivamente a aquellos pacientes que empezaron una pauta TARGA con LPV/r tras un fracaso virológico y cuya CV basal fuera >3 Log₁₀, fue el recuento de células T CD4+ de nuevo, el factor más importante para predecir un adecuado control de la CV mantenido durante al menos 48 meses (apartado 4.3.1). La historia previa de tratamiento, así como el número de IP previos y el tiempo que los pacientes hubieran seguido un tratamiento con IP, fueron factores pronósticos solo en el análisis univariante mientras que su relevancia no se demostró en el análisis multivariante. Delaugerre et al. demostraron en 69 niños que comenzaron un TARGA con LPV/r, que el tiempo previo de TAR con IP era un factor pronóstico importante para predecir fracaso virológico en los pacientes¹³⁹. No obstante, su población de estudio no solo incluía a sujetos pretratados con IP sino a 21 niños *naïve* por lo que los resultados pueden no ser completamente superponibles a los hallados en nuestra población. En

el estudio de Delaguggerre et al. ni la edad, ni la CV basal, ni el recuento de células T CD4+ tuvieron alguna influencia en el desarrollo de fracaso virológico durante un seguimiento medio de 17 meses¹³⁹.

En nuestra cohorte la edad tampoco influyó en el mantenimiento de la supresión de la CV, aunque si la cifra basal de linfocitos T CD4+. El diferente papel que la situación inmunitaria de los pacientes juega en el éxito virológico alcanzado entre otros estudios y los obtenidos en nuestra cohorte, no solo se debe a los diferentes grupos incluidos (pacientes *naïve*, pretratados con IP, en fracaso virológico...) sino que nuestro trabajo evalúa mantener CV <400 copias/ml mantenidas durante al menos 6, 12, 18, 24, 36 y 48 meses y no sólo alcanzar CV<400 copias/ml en un momento determinado.

En pacientes adultos, también se ha identificado como factor pronóstico de respuesta virológica al LPV/r en regímenes de rescate, el tiempo previo con IP ya que, cuanto mayor es la exposición del paciente a los IP, más probable es que se desarrollen mutaciones de resistencia, especialmente si la adherencia es < 95%^{264, 265, 273, 306}. En nuestra serie el impacto que la experiencia previa con IP tiene es menor, probablemente debido al menor número de fármacos disponibles de esta familia cuando se empezó el estudio.

Al evaluar los resultados a largo plazo del tratamiento con LPV/r, según el recuento de células T CD4+ y CV basal, midiendo las diferencias entre el mes 24 y el mes 0 y entre el mes 48 y el mes 24 en la supresión viral alcanzada por los pacientes incluidos en nuestro estudio (apartado 4.3.3), se observaba como tanto el recuento de células T CD4+, como el nivel de CV basal influían en la supresión de la CV (Tabla 13).

Por lo tanto, nuestro estudio demuestra como la situación inmune y virológica basal de los pacientes contribuye a mantener una buena supresión viral durante tiempos prolongados en niños, lo que es importante a la hora de decidir el inicio de las pautas TARGA. Sin embargo, cuando se evalúa, el control de la replicación viral exhaustivamente, es decir no solo teniendo en cuenta el nivel de CV alcanzado, sino también el tiempo con supresión viral mantenida, es el recuento de linfocitos T CD4+ el factor fundamental para guiar la respuesta. Actualmente las guías de recomendación del tratamiento antirretroviral en la infancia, también consideran la cifra de células T CD4+ como el factor más importante para decidir el inicio o el cambio de tratamiento⁷⁸. No obstante, también reconocen que la información complementaria que otorga la CV contribuye a un mejor seguimiento de los pacientes⁶⁶.

Para demostrar la efectividad del TARGA con LPV/r a largo plazo en la supresión de la CV plasmática, se consideró también la diferente evolución que los pacientes tuvieron

según el control de la CV (apartado 4.4). Se dividieron a los niños en 3 grupos, que no solo consideraban la rapidez con la que se conseguía la supresión viral, sino también la supresión mantenida a largo plazo, durante al menos 42 meses. Del total de niños que comenzaron LPV/r en una línea TARGA de rescate, casi un 50% tuvieron una excelente respuesta mantenida durante 55 meses de media y aproximadamente un 35% tuvieron un mal control de la replicación viral durante el tiempo que permanecieron en el estudio, de media 41 meses (Tabla 14). Existen pocos estudios que evalúen el TARGA a largo plazo en los niños y en el momento de realización del estudio, no se había comunicado la experiencia con LPV/r en la infancia durante periodos tan prolongados.

Las cifras de supresión de CV alcanzadas en nuestro estudio son menores que las comunicadas por otros autores que también han evaluado la efectividad del LPV/r en niños pero durante periodos más cortos, por lo que no son del todo superponibles con nuestros resultados. Por ejemplo, Resino et al. en una cohorte de 67 niños infectados por el VIH seguidos durante 17 meses con un régimen TARGA de rescate con LPV/r, reportó un 65,5% de los pacientes con CV <400 copias/ml al finalizar el estudio²⁶². Sin embargo, Resino et al. en otro estudio que solo incluía un grupo de 25 niños con peor situación inmunológica cuando iniciaron el TARGA de rescate con LPV/r (con recuentos de CD4+ <25%), sólo halló un 47% de los pacientes con CV <400 copias/ml al finalizarlos 18 meses de seguimiento²⁶⁷. Ramos et al. en 45 niños con experiencia previa a IP y seguidos durante 18 meses con TARGA de rescate con LPV/r, encontró que a las 48 semanas del seguimiento un 42% de los pacientes tenían CV < 400 copias/ml²⁶³. Delaguerre et al. en 69 niños infectados por el VIH comunicó una supresión de la CV < 50 copias/ml a los 18 meses en 49% de los pacientes, aunque como se ha comentado anteriormente, este estudio también incluyó pacientes *naïve* por lo que su probabilidad de respuesta era mayor¹³⁹. Sáez-Llorens et al. en el primer estudio publicado sobre efectividad a LPV/r en niños, encontró que de los 100 niños incluidos en su estudio, 79% tenían CV<400 copias/ml tras 48 semanas de tratamiento con LPV/r²⁶⁶.

Nuestros resultados, no obstante, son comparables a los publicados en población adulta con tratamiento con LPV/r durante tiempos más prolongados, como los comunicados por Václavikova et al. en 19 adultos con TARGA de rescate con LPV/r seguidos durante 38 meses, de los cuales solo 9 (47%) lograron mantener CV <400 copias/ml durante el seguimiento²⁶¹.

La diferente efectividad en el control de la replicación viral alcanzada por un mismo fármaco, no solo refleja las diferentes características de las poblaciones estudiadas, sino que refuerza la necesidad de desarrollar estudios que midan la efectividad del tratamiento a largo plazo, ya que como se ha comentado anteriormente, en la práctica clínica habitual se emplean ARV durante tiempos prolongados, y en muchas niños de manera indefinida.

Respecto al otro parámetro habitualmente empleado en la práctica clínica para monitorizar el curso de la infección VIH en los niños, el recuento de células T CD4%, nuestra Memoria demuestra una recuperación mantenida y progresiva en la cifra de linfocitos T CD4+ en los niños incluidos en nuestra cohorte. Como nuestro estudio solo evalúa la respuesta de los pacientes mientras mantuvieron el tratamiento con LPV/r, no incluye la respuesta observada en aquellos niños que abandonaron el tratamiento. No obstante, se evidencio una buena recuperación inmunológica incluso en los niños que no alcanzaron una supresión virológica completa durante el seguimiento y que mantuvieron el tratamiento con LPV/r, aproximadamente un 50% de los pacientes, por lo que nuestra cohorte no solo representa a aquellos niños con una buena evolución durante la terapia, sino que engloba también a pacientes que aun no alcanzando los resultados deseados en el control de la replicación viral, mantuvieron el tratamiento con LPV/r. Este es un escenario similar a la práctica clínica habitual, donde muchos pacientes no alcanzan cifras de CV plasmática indetectables y sin embargo si que presentan una recuperación inmunológica mantenida, lo que unido al menor número de ARV disponibles en pediatría, hacen que frecuentemente, se mantengan terapias sin una supresión viral completa⁹⁹.

Al comparar la evolución de los 77 niños incluidos en el estudio, según su cifra de células T CD4+ basal durante los 60 primeros meses de seguimiento, se observó como aquellos niños que comenzaron el tratamiento con cifras mayores de linfocitos T CD4+, lograron no solo recuentos >25% más rápido al inicio del estudio, sino que mantuvieron esta tendencia durante todo el seguimiento (Figura 13). Si bien es cierto, en los últimos 3 meses del seguimiento representados en la Figura 13, se observó como los niños que comenzaron el tratamiento con LPV/r con recuentos de células T CD4+ comprendidos entre 15-25%, alcanzaron una recuperación inmune muy parecida a la lograda por aquellos niños que iniciaron la terapia con recuentos >25%. No obstante, el menor número de pacientes incluidos en cada grupo al finalizar el estudio; 13 pacientes en el grupo con recuentos basales de células T CD4+ comprendidos entre 15-25% a los 54 meses y 7 a los 60 meses y 14 pacientes con

cifras de linfocitos T CD4+ basales >25% a los 54 meses y 10 a los 60 meses, reduce la relevancia de esta observación. Sin embargo, si se evidenció durante todo el seguimiento como aquellos niños que comenzaron el TARGA con cifras bajas de linfocitos T CD4+, aunque mantuvieron una recuperación inmunológica durante todo el seguimiento, nunca alcanzaron niveles similares a los otros grupos (Figura 13).

El factor pronóstico más importante en nuestro estudio para mantener recuentos de células T CD4+ >25% durante 6, 12, 18, 24, 36 y 48 meses fue precisamente la cifra basal de linfocitos T CD4+. Tanto el análisis univariante como el multivariante corroboraron la importancia de este factor en el mantenimiento de una adecuada respuesta inmune en los pacientes (Tabla 12). El tiempo previo con IP, así como el número de IP previos recibidos, también eran factores pronósticos para predecir recuperación inmunológica en el análisis univariante, lo que pone de manifiesto que la respuesta inmunológica en los niños decrece en los sucesivos cambios de TARGA, factor ya comunicado por otros autores⁶⁹.

La importancia de la cifra basal de células T CD4+ en la recuperación inmunológica es crucial para considerar el momento de inicio del TARGA en la infancia^{78, 121, 125}. La tendencia más conservadora en el inicio de la terapia, que aconseja esperar hasta niveles más avanzados de inmunodepresión en los pacientes para decidir el inicio del TAR, a la luz de nuestros resultados, podría verse acompañada de una respuesta menor en los pacientes. No obstante, la aparición de efectos adversos con la medicación complica la respuesta a la pregunta de cuándo empezar el TARGA, ya que cuanto mayor es el tiempo que los pacientes siguen un tratamiento, más posibilidades existen de que se desarrollen efectos adversos^{66, 121}.

En el total de nuestra población, la cifra basal de linfocitos T CD4+ era de aproximadamente 22% y tras 5 años de seguimiento con TARGA con LPV/r, ésta había ascendido hasta un 35% (Figura 11). Como se ha comentado anteriormente, el grupo con linfocitos CD4+ >25% basales tuvo una mejor respuesta inmunológica, por lo que en este subgrupo particular el recuento aumentó hasta aproximadamente un 40% al finalizar los primeros 60 meses de seguimiento (Figura 13). Nuestros resultados son similares a los comunicados por Soh et al. que tras analizar el impacto de diferentes combinaciones TARGA en 1012 niños infectados por el VIH, 702 de los cuales en tratamiento con IP, reportaron un aumento en la cifra total de células T CD4+ tras 4 años de terapia desde un 22% hasta un 28%²⁹⁹. En su estudio también se remarca la menor recuperación inmunológica de los pacientes más inmunocomprometidos, que aunque lograron un mayor aumento de linfocitos T CD4+,

alcanzaron en menor proporción cifras superiores al 25%²⁹⁹. En este estudio, los autores recomiendan también reconsiderar el inicio del TAR en niños con estadios inmunológicos 1 según la CDC⁶⁰. Además, ellos observan recuperaciones más marcadas en los niños más pequeños por lo que aconsejan comenzar antes el inicio del TAR, al igual que recomiendan las Guías americanas de tratamiento antirretroviral en la infancia^{78, 121}.

A la luz de nuestros resultados, la recuperación inmune en nuestros pacientes se mantuvo de manera constante durante los primeros 60 meses del seguimiento. Si bien es cierto que el incremento fue mayor en los primeros 18 meses tras el inicio del TARGA con LPV/r, este se mantuvo durante todo el seguimiento. Soh et al. en el estudio antes citado, también observaron una recuperación constante en el recuento de células T CD4+ durante los 4 años que comprendió su estudio, aunque a un ritmo más acelerado en los primeros 3 años²⁹⁹. No obstante, el ritmo de incremento de esta población celular se relaciona estrechamente con la edad de los pacientes³⁰⁷ y en su estudio, en el momento de inclusión los niños tenían una edad media de 6,5 años frente a los 10 años de nuestro estudio. Resino et al. recientemente han comunicado la experiencia durante 6 años con TARGA en un grupo de 113 niños infectados por el VIH, donde al igual que ha sido descrito en adultos, existe un aumento más marcado en los primeros 24 meses de terapia para posteriormente evidenciarse un *plateau* en la cifra de linfocitos T CD4+²⁹⁵. En nuestro estudio, si bien es cierto que la recuperación es mayor en los primeros 2 años del seguimiento, existe un aumento mantenido en el recuento de células T CD4+ y solo en el grupo más inmunodeprimido, con porcentajes de células T CD4+ < 15% antes del estudio, se obtienen unos resultados similares a los comunicados por Resino et al²⁹⁵.

Además, la clase de linfocitos T CD4+ que constituyen la respuesta tras el inicio del TARGA se ha comprobado que es diferente entre adultos y niños³⁰⁷. En adultos, la primera fase en la recuperación inmunológica se basa fundamentalmente en el aumento del recuento de linfocitos T CD4+ de memoria liberados desde los ganglios linfáticos, y en una segunda fase más tardía, la recuperación inmune se mantiene tanto por células de memoria como por linfocitos T CD4+ *naïve* originados en el timo. En los niños, la mayor capacidad de recuperación inmunológica se basa fundamentalmente en el esencial papel que juega el timo y la repercusión de los linfocitos T CD4+ *naïve* es mayor en la recuperación inmunológica⁸². Por tanto, los estudios que describen la evolución de las células T CD4+ con el TARGA en adultos no son completamente aplicables a la edad pediátrica. No obstante, existen menos estudios en niños, que

además incluyen un menor número de pacientes, por lo que nuestros resultados también serán comparados con los comunicados en adultos.

Battegay et al. han demostrado que hasta casi un tercio de los pacientes adultos que inician una pauta TARGA, no alcanzan niveles de CV indetectables pero mantienen una recuperación inmunológica adecuada, con niveles de células T CD4+ > 500 cel/mm³ durante 5 años, independientemente de la supresión viral alcanzada³⁰⁷. En aquellos pacientes que logran un control de la CV por debajo del límite de detección, la cifra basal de células T CD4+ fue el factor fundamental para predecir una adecuada recuperación inmune en su estudio³⁰⁷, aunque como demostró recientemente también Kaufmann et al. en 293 pacientes adultos pertenecientes a la cohorte suiza, existen factores no identificados en el huésped y en el virus (menor capacidad de recuperación tímica, mayor patogenicidad de la cepa viral...) que determinan que en pacientes con buen control virológico la recuperación inmune no alcance cifras de células T CD4+ > 500 cel/ mm³ ³⁰⁸.

En nuestra cohorte, el grupo que mantuvo durante al menos 42 meses un buen o moderado control de la replicación viral plasmática, fue aquel en que se evidencio una mayor recuperación inmunológica (Tabla 16). Si bien es cierto que en el momento basal también eran los pacientes con mayor recuento de células T CD4+, 25% de media en el grupo con buena respuesta y 16% en el grupo con respuesta moderada, al final del seguimiento ambos grupos habían logrado aumentar sus recuentos de CD4 un 10% más.

Zacarrelli et al. también han comunicado en un estudio realizado en 41 niños con TARGA durante 20 meses, como los niños con respuesta virológica moderada y buena logran una recuperación inmune similar³⁰⁹. Además estos autores también estudian el tipo celular que constituye esta recuperación inmunológica y concluyen que en aquellos niños con mal control de la replicación viral se observan no solo menores recuentos de células T CD4+ totales, sino también menor recuento de células T CD4+ naive y mayores recuentos de células T CD4+ de memoria efectoras, mientras que las células T CD4+ de memoria central eran superiores en el grupo de buena respuesta³⁰⁹. La importancia de este hecho, radica en que a medida que la infección VIH progresa, se ha demostrado una menor capacidad del sistema inmunológico para mantener el número de linfocitos T CD4+ de memoria centrales y un aumento en la cifra de linfocitos T CD4+ de memoria efectoras que también son más vulnerables a la infección viral^{82, 309}.

Resino et al. han comunicado en una cohorte de 20 niños pretratados como el uso de LPV/r mejora también su respuesta inmunológica. En su estudio, los niños lograban a los 18 meses de seguimiento una reducción en el número de células T CD4+ de memoria efectoras así como una reducción en las cifras de células T CD8+ activadas. Al final del seguimiento el fenotipo viral más aislado era NSI/R5, asociado a una evolución clínica más favorable en los pacientes³¹⁰. Este mismo grupo de investigación, ya había comunicado previamente la capacidad del LPV/r para revertir el fenotipo viral³⁹.

En el momento de inclusión en nuestro estudio, la cifra de células T CD8+ era de 46,3% y durante los 60 primeros meses de seguimiento se observó como en los 77 niños aconteció un descenso progresivo en la cifra de linfocitos T CD8+. No obstante, la velocidad del descenso no fue constante, ya que en los primeros 18 meses del seguimiento fue superior al observado en los meses restantes (Figura 11). El descenso acelerado en la cifra de células T CD8+ coincidió con el aumento en la cifra de linfocitos T CD4+ observado en nuestra población.

Es más, teniendo en cuenta el nivel de control de la replicación viral alcanzado por los pacientes, el descenso de células T CD8+ durante todo el seguimiento, fue solo observado en el grupo con adecuado control virológico mientras que los niños con respuesta virológica moderada o mala durante el seguimiento, presentaron recuentos de células T CD8+ mantenidas durante el primer año de seguimiento aunque posteriormente aumentaron, coincidiendo con el menor ascenso de células T CD4+ (Tabla 15 y Tabla 16). En el grupo con un control virológico moderada durante el seguimiento, el recuento de células T CD8+ aumentó de manera más marcada entre los meses 12 y 42 del seguimiento, acompañándose de una recuperación inmunológica más moderada (de 24% de células T CD4+ a los 12 meses a 26% a los 42 meses).

El significado pronóstico que el aumento en la cifra de linfocitos T CD8+ tiene en el curso de la infección VIH pediátrica ya ha sido comentado anteriormente⁸⁴ y podría indicar en nuestra población como el beneficio inmunológico logrado incluso en el grupo sin adecuado control de la carga viral, podría no ser permanente en la infancia acelerando por tanto la necesidad de modificarlos regímenes TARGA hacia otro más efectivos cuando no se consigue un adecuado control de la replicación viral.

Deeks et al. ya comunicaron en el año 2001 como la falta de supresión virológica conducía al desarrollo de resistencias en el virus que generalmente se acompañaban de menor *fitness* viral y por tanto no impedían la recuperación inmune³¹¹. Sin embargo,

cuando los pacientes fracasan a las 3 familias principales de ARV, su pronóstico empeora como demostró el estudio PLATO que incluyó a 2488 pacientes adultos, en los que se observó un beneficio inmunológico en pacientes multirresistentes siempre y cuando los niveles de CV se mantuvieran <10.000 copias/ml³¹². Son precisos por tanto, más estudios en niños durante tiempos prolongados que demuestren cuándo acontece la pérdida de células T CD4+ en grupos con replicación viral no del todo suprimida, que aun así logran beneficios inmunológicos transitorios con la terapia.

Al comparar la recuperación inmunológica alcanzada por nuestra población con los resultados comunicados por otros autores que también han evaluado el uso de LPV/r en la infancia, observamos como nuestra cohorte alcanzó resultados similares a los comunicados por Sáez-Llorens et al. en el estudio antes expuesto que evaluó por primera vez la respuesta a LPV/r en niños, donde se obtuvo tras 48 semanas de tratamiento un aumento en la cifra de células T CD4+ de 10,3% (404 cel/mm^3)²⁶⁶. En los pacientes incluidos en nuestro estudio con control de la replicación viral bueno y moderado, se obtuvo un beneficio inmunológico similar tras 42 meses de seguimiento (Tabla 16). En el estudio de Resino et al. que evaluaba la respuesta al TARGA de rescate con LPV/r en una población de niños pretratados con inmunodepresión moderada-severa en el momento basal se objetivó que el tiempo medio que fue preciso para alcanzar recuentos $>25\%$ fue de 12,6 meses²⁶⁷, cifra similar a la obtenida en nuestro estudio donde los niños que tenían recuentos de células T CD4+ $< 25\%$ en el momento basal alcanzaron niveles de CD4+ $>25\%$ en 11,7 meses.

La coinfección por el VHC fue observada en 5 pacientes de nuestra cohorte. Ambos virus, son capaces de transmitirse por vía vertical y aunque la transmisión de cada agente por separado es más frecuente en madres coinfectadas, también se ha descrito la transmisión conjunta de ambos³¹³, como en el caso de 4 de los 5 niños pertenecientes a nuestro estudio coinfectados por el VHC y el VIH por vía vertical. La transmisión sanguínea del VHC por hemoderivados o por material inyectable contaminado es frecuente, siendo la vía de adquisición de la infección por VHC más frecuente de nuestro país⁷⁶. En un paciente hemofílico de nuestro estudio, la transmisión del VIH y VHC aconteció en los primeros años de vida, aunque fue diagnosticada a los 2,5 años. La aproximación terapéutica en este paciente fue similar a aquellos niños infectados por el VIH y el VHC verticalmente, por lo que a pesar de que el contagio en este paciente fue posterior al nacimiento, ha sido incluido durante el análisis junto a los otros 4 niños.

Los efectos que la infección por el VHC tiene sobre la progresión del VIH son poco conocidos en la edad pediátrica y la mayoría de los datos derivan de estudios realizados con pacientes adultos, en los que además se han obtenido resultados muy dispares probablemente debido al diferente genotipo del VHC que tenían los pacientes incluidos³¹⁴. Nigro et al. reportó el caso de 2 niños coinfectados sin progresión de la infección VIH durante al menos 10 y 10,6 años, sugiriendo que la coinfección por el VHC podía endentecer la progresión de la enfermedad por el VIH³¹⁵. No obstante su pequeño tamaño muestral limitaba sus resultados. Papaevangelou et al. no encontró diferencias significativas entre la progresión de 9 niños coinfectados por el VHC y VIH y 3 niños solo infectados por el VIH, aunque si observó una tendencia a mantener CV del VIH más bajas a los 6 meses en el grupo de niños coinfectados³¹⁶. En nuestra cohorte el grupo de 5 niños coinfectados por el VHC tenían mejores parámetros nutricionales y estadios clínico e inmunológicos menos avanzados en el momento basal, lo que podría sugerir una progresión más lenta de la infección por el VIH en estos pacientes (Tabla 7). Además, aunque no hubo diferencias marcadas el los recuentos de células T CD4+, T CD8+ y CV al inicio del estudio, los niños coinfectados por el VHC lograron una mejor supresión de la CV plasmática que lo niños con infección por el VIH exclusivamente (Figura 18). Más aun, en el grupo de niños coinfectados no fue preciso ningún cambio en el TARGA durante el período que comprendió en estudio y todos los niños coinfectados no interrumpieron el TARGA con LPV/r, teniendo por tanto un tiempo medio de seguimiento más prolongado que el resto de la cohorte, 57 vs. 48 meses. La evolución más favorable de estos pacientes podría sugerir una evolución más lenta en la progresión de la infección por el VIH en presencia de la coinfección por el VHC. No obstante, el pequeño número de pacientes, así como la presencia de otros factores como la mejor adherencia de los pacientes coinfectados, respecto al resto de la cohorte, limitan nuestros resultados.

En pacientes adultos ha sido ampliamente estudiado cómo la infección por el VIH si acelera el curso de la enfermedad por el VHC, siendo la hepatopatía por el VHC una de las causas principales de mortalidad entre los pacientes adultos VIH+³¹⁷. No obstante, en niños la infección por el VHC sigue un curso mas lento que en los adultos como demostraron los resultados de la cohorte europea, donde solo el 22% de los niños coinfectados experimentaba al menos una manifestación clínica menor antes de los 4 años³¹⁸. En este estudio, la hepatomegalia, la viremia del VHC y los incrementos de GPT, fueron indicativos de infección por el VHC activa en el 30% de los niños coinfectados³¹⁸. En el momento de realización del estudio, no existía ningún estudio

que comparara la evolución de la infección por el VHC en niños coinfectados por el VIH y el VHC frente a niños infectados exclusivamente por el VHC³¹³. No obstante, tanto los estudios realizados en niños como en población adulta, muestran cifras más elevadas de transaminasas en el grupo de pacientes coinfectados, como ocurre en nuestra cohorte donde, los niños con el VHC no solo tienen cifras más elevadas de GOT, GPT y GGT en el momento basal, sino que mantienen esta tendencia durante todo los meses que abarca el estudio (Figura 18).

En pacientes adultos, se ha demostrado como la coinfección por el VHC y el VIH se asocia a tasas más altas de lipodistrofia e intolerancia a la glucosa. Sin embargo, recientemente se han comunicado los resultados de 2 estudios que muestran menor incidencia de dislipemia en pacientes adultos coinfectados por el VIH y el VHC respecto a pacientes con infección por el VIH exclusivamente. Montes et al. comunicó el papel protector de la infección por el VHC en una cohorte de 107 adultos naive que iniciaron un TARGA con LPV/r durante 12 meses¹⁷⁶ y Bedimo et al. lo demostraron en una cohorte de 359 pacientes con TARGA seguidos 15 meses, en los que la presencia de infección por el VHC se asociaba a un riesgo relativo de 0,37 para desarrollar hipercolesterolemia y de 0,53 frente a la dislipemia ($p=0,01$)³¹⁹. Este autor sugería como posible explicación a este papel protector la ocupación de los receptores LDL por el VHC, lo que limitaría la entrada del LDL en las células, así como la desregulación que el virus del VIH ocasiona en el metabolismo lipoproteico³¹⁹. En nuestra cohorte los niños coinfectados por el VHC y el VIH, no solo tenían cifras de colesterol total y colesterol-HDL y LDL más bajas en el momento basal, sino que además mantuvieron esta tendencia durante todo el tiempo que abarcó el estudio (Figura 18). Además, no se objetivó un aumento en las cifras de glucosa en el seguimiento de estos pacientes, ni presentaron ninguno de los 5 niños coinfectados signos de lipodistrofia al finalizar el estudio.

La aparición de efectos secundarios a los ARV limita los beneficios obtenidos por el TAR ya que es un factor que contribuye a reducir la adherencia en los pacientes^{107, 158, 163}. En niños se han descrito numerosos efectos adversos a la medicación ARV como dislipemia, lipodistrofia, osteopenia, hiperlactatemia... Estos pueden aparecer tanto poco tiempo después del inicio del TAR, como durante el mismo^{172, 179}. Además, en el tratamiento de la infección VIH en la infancia, el riesgo de futuras complicaciones en la edad adulta, derivadas de tratamientos prolongados durante la infancia, como el riesgo cardiovascular generado por la alteración en el perfil lipídico de los niños con TARGA, complica el manejo de la infección VIH⁷⁸. Son precisos estudios que como

esta Memoria, evalúen a largo plazo la tolerancia de los fármacos ARV. Es preciso encontrar en cada paciente el equilibrio exacto entre no esperar demasiado para iniciar un TAR, lo que contribuirá a una adecuada recuperación inmunológica de ese paciente, y tampoco adelantar su comienzo, para así evitar en lo posible la aparición de efectos adversos.

En nuestra cohorte, al finalizar el estudio aproximadamente un 30% de los pacientes tenía lipodistrofia, tanto lipoatrofia, como lipohipertrofia o un patrón mixto. Cada pediatra responsable de los pacientes participantes en el estudio, valoró al finalizar el seguimiento la presencia de lipodistrofia en los niños. Al tratarse de un estudio retrospectivo, las cifras halladas no pueden atribuirse por completo al uso de TARGA con LPV/r, ya que no se disponía de un estudio de prevalencia de lipodistrofia en la misma cohorte cuando comenzaron el tratamiento.

Aun así, los resultados presentados en esta Memoria concuerdan con otros estudios publicados en la literatura sobre prevalencia de lipodistrofia en niños infectados por el VIH con TARGA; Ene et al. reportó en un estudio transversal realizado en 88 niños con una edad media de 11 años, un porcentaje de 27% de lipodistrofia¹⁸¹. En su estudio, el uso de d4T y/o IP fueron factores de riesgo para el desarrollo de lipodistrofia. En nuestra población, la edad media de los pacientes incluidos (10 años) era similar y además se trataba de una población que no solo había tomado d4T previamente, sino que hasta en un 67,5% de los pacientes, la estavudina formaba parte del régimen TARGA inicial. Beregszaszi et al. encontró en una cohorte de 130 niños con TARGA seguidos durante 2 años, un 24,6% de lipodistrofia¹⁷⁸. En su estudio, la raza, edad y empleo de NRTI en los pacientes se identificaron como factores de riesgo para el desarrollo de lipodistrofia.

La importancia de la edad en los estudios de prevalencia de lipodistrofia es crucial ya que la pubertad por si misma, altera la distribución de la grasa corporal y por tanto es un factor de confusión que ocasiona resultados dispares entre los estudios. Además la falta de una definición exacta de la lipodistrofia en la infancia y los diferentes medios empleados en su medida, también contribuyen a aclarar las diferencias encontradas entre los diferentes estudios.

Carter et al. en un estudio longitudinal en 178 niños encontró solo un 5,6% de lipodistrofia¹⁷³. No obstante en su estudio, un 93% de los pacientes eran <10 años y no se diferenciaron grados de lipodistrofia, por lo que es probable que solo se reportaran los grados más avanzados. Dzwonek et al. encontró un 8,5% de lipodistrofia en una

cohorte de 85 niños con TAR¹⁷⁴. Sin embargo, en su estudio >95% procedían de África subsahariana y solo se incluía un año de seguimiento de los pacientes.

La alteración en el perfil lipídico de los pacientes en tratamiento con LPV/r ha sido descrita tanto en pacientes adultos como niños y, como se ha comentado anteriormente, sus consecuencias cardiovasculares futuras limitan en ocasiones el uso de este ARV en la infancia^{175, 176}. La sustitución por otros IP con menor alteración del perfil lipoproteico, como el ATZ, así como el cambio de un IP por un NNRTI son opciones a considerar una vez se ha desarrollado la dislipemia^{151, 177}.

En nuestra cohorte de 77 pacientes tratados con un TARGA con LPV/r, las cifras de colesterol total, colesterol-HDL y colesterol-LDL, se mantuvieron relativamente constantes durante los primeros 60 meses de seguimiento. Las cifras de triglicéridos sufrieron mayores variaciones, con una tendencia a disminuir en los primeros 40 meses, mientras que en los últimos 20 meses las variaciones interpacientes fueron muy superiores y se evidenció una tendencia global en los pacientes a mantener niveles de triglicéridos superiores a los medidos en el momento basal (Figura 11).

Al comparar nuestros resultados con los obtenidos en otros estudios como el de Resino et al. en 67 niños pretratados con TARGA de rescate con LPV/r la frecuencia de hipercolesterolemia en nuestra población a los 12 meses fue inferior a la reportada por Resino et al.²⁶². En nuestra cohorte, 45% de los pacientes tenían niveles de colesterol >200 mg/dl mientras que en el estudio de Resino et al. el 23,7% de los pacientes presentaron niveles de colesterol >250 mg/dl tras 16 meses de seguimiento²⁶². No obstante, la mediana del nivel de colesterol en los niños con hipercolesterolemia de nuestra población (aquellos que a los 12 meses tenían niveles de colesterol >200 mg/dl) fue 228,5 mg/dl, por lo que el porcentaje de niños que en nuestra cohorte tuvieron niveles de colesterol > 250 mg/dl fue inferior que el reportado por Resino et al. Al analizar el porcentaje de niños con niveles de triglicéridos >150 mg/dl, encontramos que en nuestro estudio la cifra era 36%, mientras que en el estudio antes citado de Resino et al. este porcentaje era del 23%²⁶². Sin embargo, el dintel para definir la hipertrigliceridemia fue muy superior (>400 mg/dl) y en nuestro estudio, la mediana de los niños con hipertrigliceridemia a los 12 meses era de 242 mg/dl, por lo tanto el porcentaje de niños con niveles de triglicéridos >400 mg/dl a los 12 meses en nuestro estudio fue menor al comunicado por Resino et al. Además, los porcentajes de hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia en nuestra población no aumentaron significativamente respecto al valor basal a los 48 meses de seguimiento;

del 33% al 18% en la frecuencia de hipercolesterolemia y del 31% al 39% en la frecuencia de hipertrigliceridemia.

El estudio a largo plazo del TAR, insistiendo no solo en sus complicaciones inmediatas sino en los posibles efectos adversos que aparecen tras años de tratamiento, es el motivo por el cual en nuestra Memoria solo se ha reportado los efectos adversos graves a la medicación, así como aquellos que motivaron su interrupción. Sin embargo, se han empleado puntos de corte más estrictos en la definición de hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia que los utilizados por otros autores. El impacto en la edad adulta, que cifras elevadas de lípidos mantenidas durante periodos prolongados de TAR en la infancia, es aun desconocido^{78, 179}. No obstante, es lógico inferir que cuanto más próximos a la normalidad se mantengan los valores de estos parámetros, menores serán sus efectos a largo plazo.

Al comparar la frecuencia de abandonos en nuestra población debido a efectos adversos, respecto a la reportada por otros autores, el porcentaje de abandonos en nuestro estudio por efectos secundarios de la medicación (4% de los niños suspendieron LPV/r por la presencia de lipodistrofia) fue similar a la reportada por Resino et al. en una cohorte de 67 niños donde el 6% suspendía la medicación tras 16 meses de seguimiento²⁶² o a la comunicada por Bofanti et al. en 703 pacientes adultos con LPV/r que tras 10 meses de seguimiento tuvieron una tasa de abandono del 3,4%³²⁰. Ramos et al. reportó una tasa de abandono tras el inicio del TARGA con LPV/r del 6,6% de los pacientes tras 18 meses de seguimiento²⁶³.

La mayoría de los autores coinciden en la frecuencia de efectos secundarios tras el empleo de LPV/r, entre un 20-30% de los pacientes manifiesta algún efecto secundario a la medicación, generalmente gastrointestinales²⁵⁴. En nuestra cohorte la frecuencia de trastornos digestivos, un 6,5% de los pacientes, fue menor aunque, como ya se ha mencionado anteriormente, sólo se han reportado en nuestro estudio los efectos adversos grado III o superior, por lo que las cifras no son del todo comparables con otros estudios como el llevado a cabo por Resino et al. quien halló un 44,7% de pacientes con efectos adversos tras el inicio de TARGA de rescate con LPV/r²⁶². No obstante, la mayoría de efectos adversos fueron considerados leves y transitorios en su estudio. Bongiovanni et al. halló un 18,5% de efectos adversos gastrointestinales en 416 adultos pretratados³²¹. Ramos et al. comunicó una tasa de 40% de aparición de efectos adversos en 45 niños con TARGA con LPV/r, del 16% de pacientes que tuvieron diarrea en su estudio, solo 1 (2,2%) fue de grado III²⁶³.

Un paciente asmático de nuestra cohorte, al 3 año de tratamiento con LPV/r, desarrolló un Sd de Cushing al recibir fluticasona inhalada por una crisis de broncoespasmo grave. Esta rara complicación, ha sido previamente descrita en la literatura en 3 pacientes pediátricos y en 12 adultos y se debe al marcado incremento en los niveles de fluticasona que se alcanzan al coadministrarla con ritonavir, ya que este inhibe al citocromo CYP 3A 4, principal vía metabólica de la fluticasona³²². Las guías actuales de TAR desaconsejan el uso conjunto de ritonavir y corticoides inhalados y recomiendan que cuando su uso sea necesario se empleen los corticoides inhalados con menor distribución sistémica y con la mínima dosis efectiva posible.

En nuestro estudio, 4 de los pacientes fallecieron durante el seguimiento, con una media de tratamiento de aproximadamente 28 meses. Todos los niños fallecidos tenían recuentos de linfocitos T CD4+ más bajos y CV más altas que la media. Además, ninguno experimentó una adecuada recuperación inmunológica tras el inicio del TARGA con LPV/r (Figura 12). La peor situación basal de estos niños, se acompañó de una adherencia mala o regular, por lo que el beneficio del TARGA con LPV/r fue pequeño y transitorio. Ylitalo et al. en una cohorte de 1927 niños seguidos de media durante 28 meses, encontró que un 12,7% de sus pacientes desarrollaba una enfermedad oportunista durante el seguimiento⁶². La progresión a SIDA en su cohorte se relacionó con la falta de respuesta al tratamiento TARGA, lo que a su vez se relacionaba con el inicio de los regímenes TARGA en niños >10 años y con recuentos de células T CD4 <15% en el momento de inicio de los tratamientos. En nuestra cohorte, los niños que progresaron a SIDA y fallecieron tenían una media de edad en el momento basal mayor y recuentos de células T CD4+ inferiores respecto al total de la población.

La falta de una supresión completa de la replicación viral en los pacientes puede conducir al desarrollo de resistencias a los ARV, lo que a su vez, limita la respuesta obtenida con futuros tratamientos^{189, 192}. Esto ha sido ampliamente demostrado en niños y adultos, pero en pediatría, el menor número de ARV disponibles complica aún más este escenario^{78, 323}. Por lo tanto es preciso conocer la prevalencia de resistencia a ARV en nuestra población, así como investigar de qué manera se generan y acumulan nuevas mutaciones de resistencia en el genoma del VIH, para intentar minimizar este fenómeno, que una vez que aparece, no solo es irreversible, sino que complica y ensombrece el pronóstico de los pacientes infectados por el VIH²²⁹. Por eso en esta Memoria, el último estudio realizado profundiza en la frecuencia y aparición de

las mutaciones en el gen de la proteasa viral en una cohorte de 43 niños que comienzan TARGA de rescate con LPV/r.

Al analizar la frecuencia de mutaciones halladas en el momento basal en la cohorte, se observa como las mutaciones en el gen de la RT son en conjunto, las más prevalentes en la población (Tabla 17). Esto se corresponde con la mayor duración previa de los tratamientos con NRTI en la cohorte de niños estudiada, 70 meses frente a los casi 40 meses que habían tomado tratamientos con IP. Las mutaciones que confieren resistencia a los NRTI conocidas como TAMs, fueron a su vez el subgrupo más prevalente entre las mutaciones de la RT halladas en el momento basal. Fue la M41L la mutación de la RT más frecuente (53%), lo que a su vez se corresponde con el hecho de que en nuestra población las mutaciones T215Y y L210W fuera también muy prevalentes (50% y 42%). La importancia de esta vía de acumulación de TAMs en los pacientes, radica en la menor respuesta observada a tratamientos con TDF en aquellos pacientes que, aun no habiéndolo tomado previamente, podrían tener una respuesta reducida a este fármaco en presencia de estas mutaciones¹⁹⁹. En nuestra cohorte, casi el 40% de los pacientes incluyeron 3TC en el TARGA inicial ya que solamente un 28% de los pacientes tenía la mutación M184V que confiere resistencia de alto nivel al 3TC y FTC¹⁹². Al analizar las mutaciones en el gen de la proteasa, la L63A/P fue la mutación más frecuente, en 75% de los pacientes. Este es un polimorfismo frecuente en el gen de la proteasa aunque también se ha hallado en pacientes que fracasan al indinavir o ritonavir²³³. En nuestra población aproximadamente un 35% y 33% de los pacientes habían tomado previamente estos dos ARV respectivamente. Dentro de las mutaciones consideradas como primarias por la IAS, fue la L90M la más frecuente. Chaix et al. en un estudio llevado a cabo en 115 niños de Côte d'Ivoire que durante al menos 6 meses hubieran tomado un TARGA con 2 NRTI y NFV o EFV, en el subgrupo de niños que habían tomado NFV, fue también la L90M la mutación más frecuente³²³. No obstante en su estudio, la prevalencia de subtipos no B en la población era muy superior a la nuestra por lo que Chaix et al. explicaban cómo las vías de resistencia al NFV son diferentes entre los diferentes subtipos, siendo la D30N la mutación que más frecuentemente se selecciona tras fracasos a NFV en subtipos B y la mutación L90M la mutación que más frecuentemente se selecciona en fracasos a NFV en otros subtipos no-B, especialmente en el subtipo G³²³. Si bien es cierto que en España han ido aumentando la frecuencia de subtipos no-B en los nuevos diagnósticos de infección VIH⁸, en el momento en que nuestra población fue diagnosticada, la prevalencia era

muy baja. Por lo tanto, la mayor frecuencia de la mutación L90M frente a la D30N hallada en nuestra población, pese a que el NFV fue el IP que más número de pacientes habían tomado previamente, un 42%, no se correlaciona con la presencia de otros subtipos no-B en nuestra cohorte, sino con el hecho de que la resistencia cruzada entre los diferentes IP es elevada^{192, 209}. Por ejemplo, la mutación L90M también se selecciona en fracasos a SQV y aproximadamente un 20% de nuestros pacientes habían tomado previamente este fármaco.

La alta frecuencia de mutaciones relacionadas con resistencia a NNRTI en nuestra población, más del 50% tenía la mutación K103N seleccionada en fracasos a EFV, justifica que menos del 40% de nuestros pacientes comenzasen un TARGA con 1 NNRTI (Figura 10). Además, en nuestra población también se comprobó como las mutaciones que confieren resistencia a NNRTI, aparecen precozmente⁴⁹ ya que esta familia de fármacos había sido tomada por los pacientes tan sólo 15 meses antes del comienzo del estudio y sin embargo más de la mitad de la población tenían alguna mutación de resistencia a los NNRTI.

La comparación entre estudios de prevalencia de resistencia a ARV es complicada debido a que la frecuencia de mutaciones en una población se halla influenciada por la historia de TAR previos de los pacientes, la posibilidad de resistencia cruzada entre los ARV, los diferentes niveles de adherencia de los pacientes, la distinta sensibilidad de los test empleados para detectar las mutaciones.... Por lo tanto nuestros resultados, no son directamente comparables a los obtenidos por otros autores, aun así es importante remarcar como la elevada frecuencia de mutaciones hallada en nuestra población ya ha sido reportada por otros autores. Machado et al. describió en una cohorte de 75 niños brasileños que iniciaron un TARGA de rescate como tras 15,7 meses de seguimiento la media de mutaciones en el gen de la RT era de 4,0 y en el gen de la proteasa de 5,8 al finalizar el estudio. En su estudio la mutación más frecuente en el gen de la RT fue la M184V en 83,3% de los pacientes seguida de la M41L, T215Y y L210W (en 50% de los pacientes)¹⁸⁶. Chaix et al. en el estudio antes citado de 115 niños procedentes de Côte d'Ivoire con TARGA durante al menos 6 meses, encontró que un 23% de los pacientes tenían mutaciones de resistencia a ARV al finalizar el tratamiento³²³. El estudio transversal ERASE-2, realizado en España con 542 pacientes adultos pretratados, se demostró que un 72,9% de los pacientes tenían mutaciones en el gen de la RT (M184V: 38,5%, T215Y: 30,1% y M41L: 22,5%)³²⁴.

La importancia actual de la resistencia a ARV no exclusiva de los pacientes pretratados ya que como demostró Gallego et al. en 684 adultos *naïve* infectados por

VIH en España, un 10,8% tenían cepas con mutaciones de resistencia³²⁵. Delaugerre et al. han demostrado recientemente como hasta un 20% de los niños infectados por transmisión vertical tienen cepas resistentes procedentes de la madre³²⁶. Kamkamidze et al. también habían demostrado el aumento de frecuencia en la mutación 215 en recién nacidos tras el tratamiento durante la gestación con ZDV¹³⁵. Por lo tanto, es preciso conocer la prevalencia de resistencias a ARV en la población a tratar ya que esto contribuirá a un uso óptimo de los ARV, con el consiguiente incremento en la respuesta alcanzada por los pacientes¹⁸⁵.

Tal y como se ha expuesto en la Introducción de esta Memoria, la interpretación de los test genotípicos de resistencia es muy compleja ya que, en general la resistencia a ARV es un fenómeno progresivo y en el caso de los IPs, es frecuente la resistencia cruzada, por lo que es crucial evaluar el conjunto de mutaciones en la proteasa que un determinado paciente ha acumulado durante su historia de TAR para seleccionar el régimen más óptimo^{228, 235, 269, 281}. Entre las diferentes herramientas disponibles en la actualidad para interpretar un test genotípico de resistencias, el algoritmo creado por la Universidad de Stanford ha sido recientemente validado en población adulta y es de acceso libre^{241, 249}, lo que permite su uso en países con limitado acceso a la medicación antirretroviral, en los que la transmisión de virus resistentes es aún más preocupante y por tanto se ha de intentar minimizar el riesgo de aparición de resistencias seleccionando los tratamientos más óptimos³²⁷. Sin embargo, en la literatura revisada no existe ningún estudio que evalúe su aplicación en niños.

En nuestra población tanto el empleo del programa *HIVdb: Genotypic Resistance Interpretation Algorithm* de la Universidad de Stanford como el listado de mutaciones de la *IAS-USA panel* fueron herramientas útiles para predecir respuesta virológica en nuestros pacientes. En aquellos niños que comenzaron el TARGA con LPV/r, siendo esta fármaco considerado por el algoritmo de la Universidad de Stanford sensible, casi un 70% de los pacientes mantuvieron una respuesta virológica mantenida durante al menos 42 meses, mientras que en aquellos pacientes que el LPV/r era considerado como un fármaco con resistencia de grado intermedio solo el 30% mantuvo una adecuada respuesta virológica durante el seguimiento. Del mismo modo, la presencia de al menos una mutación considerada como primaria por la *IAS-USA panel* en el momento basal, era un factor pronóstico de peor respuesta virológica en nuestra cohorte.

Al analizar la utilidad del score de LPV/r diseñado por Kempf et al.²⁷⁹ identificamos 2 mutaciones en nuestra cohorte asociadas a peor respuesta virológica, la I54V y la

V82A. Nuestros resultados son similares a los publicados por Jiménez et al. en una cohorte de 56 niños españoles con TARGA de rescate con LPV/r, en los que la presencia de estas 2 mutaciones también se asociaba a fracaso virológico³²⁸. En nuestra población, la mutación K20M también se halló mas frecuentemente en los pacientes con mala respuesta virológica aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas. Monno et al. en una cohorte de 100 adultos con experiencia previa a IPs pero naivess al LPV/r que inhiban un TARGA de rescate, también identifico a la mutación K20M junto a la I54V, V82A y G73SA como factores que predecían una mayor tasa de fracaso virológico²⁷¹. Mo et al. también identifico a las mutaciones I54V, V82A junto a la M46L en una cohorte de 55 adultos pretratados que fracasaban con TARGA con LPV/r²⁶⁹. Sin embargo, la mayoría de los autores han empleado el score de LPV/r diseñado por Kempf et al.²⁷⁹ y otros posteriores como el de Parkin et al.²⁸⁰ para determinar el umbral de mutaciones que pueden predecir fracaso virológico. Estudios como el de Václavikova et al. en una cohorte de 19 adultos que iniciaban TARGA de rescate con LPV/r demostraron que tener 5 o más mutaciones en el gen de la proteasa pertenecientes al score de Kempf era un factor para predecir de fracaso virológico²⁶¹. Resino et al. y Ramos et al. también han demostrado que en niños pretratados que iniciaban TARGA de rescate con LPV/r la presencia de ≥ 6 mutaciones en el gen de la proteasa también predecían fracaso virológico^{167, 263}. En nuestra cohorte obtuvimos unos resultados similares ya que el grupo de niños con peor respuesta virológica tenía en el momento basal una mediana de 8 mutaciones en el gen de la proteasa pertenecientes al LMS, frente a la de los grupos de respuesta moderada y buena que tenían una mediana de 2 mutaciones (Tabla 14).

Por lo tanto, nuestro estudio demuestra cómo el empleo de algoritmos para interpretar los test de resistencia genotípicos son una herramienta muy útil para predecir respuesta virológica en niños infectados por VIH. No obstante, es necesario desarrollar más estudios que contribuyan a estandarizar su uso en la práctica clínica habitual.

En la cohorte de 16 niños con mal control de la replicación viral en los que se dispuso de test genotípicos de resistencia seriados durante el seguimiento en nuestra población, se observó como la mutación L33F, fue el cambio adquirido en la proteasa más prevalente, en 4 de los 9 pacientes que nuestra cohorte acumularon mutaciones al mantener el LPV/r con un mal control de la replicación viral (Tabla 19). Mo et al. en el estudio antes citado, también identificó a la L33F en 33% de los pacientes que mantuvieron el TARGA con LPV/r en fracaso virológico, aunque en su estudio fue la

M46I la mutación más frecuentemente hallada en estos pacientes, 73%²⁶⁹. También Voight et al. señaló la importancia de esta mutación en los pacientes pretratados que fracasaban a LPV/r. En su estudio en una cohorte de 58 pacientes que iniciaban TARGA con LPV/r de los cuales 6 no alcanzaban buen control virológico en la semana 48, 5 adquirirían la mutación L33F²⁷². Václavikova et al. en el estudio antes citado, identificó la mutación L33F en 3 de los 5 pacientes que dentro de su estudio no alcanzaron CV indetectables tras 37,5 meses de TARGA con LPV/r²⁶¹.

Nuestro estudio demuestra como a pesar del adecuado perfil farmacocinético del LPV/r, que dificulta la aparición de resistencias cuando este fármaco falla en primera línea, incluso en pacientes con monoterapia con LPV/r³²⁹, en niños pretratados con mutaciones en el gen de la proteasa, si no se logra un adecuado control de la CV se podrán acumular nuevas mutaciones en el gen de la proteasa. Esto, no solo limitará la respuesta obtenida con el tratamiento actual, sino que reducirá las posibilidades de éxito de futuros tratamientos frente a una infección, que como se ha expuesto en esta Memoria, requiere un tratamiento muy prolongado y en ocasiones de duración indefinida.

6. CONCLUSIONES

Con los datos presentados en esta Memoria, las conclusiones a las que se ha llegado son las siguientes:

1. El empleo de TARGA con LPV/r durante tiempos prolongados, se asocia a un incremento sostenido en la cifra de linfocitos T CD4+ y a una disminución marcada y constante de la CV plasmática, en los niños infectados por el VIH.
2. El empleo prolongado de LPV/r en la infancia, no se asocia a un incremento progresivo en las cifras de colesterol total, colesterol-HDL, colesterol-LDL ni glucosa. Sin embargo, si se asocia a un leve incremento en la cifra de triglicéridos.
3. El empleo prolongado de LPV/r en niños infectados por el VIH, disminuye la progresión a SIDA y por lo tanto logra un incremento de la supervivencia de los niños.
4. La cifra de linfocitos T CD4+ basal, es el factor pronóstico más importante en niños infectados por el VIH, para predecir una recuperación inmunológica prolongada y mantenida, así como una adecuada supresión virológica durante tiempos prolongados con TARGA que incluya LPV/r.
5. La CV basal y el tiempo de TAR previo, en los niños infectados por el VIH, son un factor importante para alcanzar CV indetectable durante el seguimiento.
6. Recuentos de células T CD4+ más altos en el momento de inicio del TARGA con LPV/r, se asocian a una recuperación inmunológica más rápida y sostenida en los niños infectados por el VIH. Además, los niños infectados por el VIH con cifras de células CD4+ basal más altos, muestran una tendencia a alcanzar CV indetectables más rápido al iniciar un TARGA con LPV/r.
7. Cuanto mayor es la adherencia de los niños infectados por VIH al TARGA con LPV/r, más rápido se alcanza una adecuada supresión de la CV.
8. Los niños coinfectados por el VHC y el VIH con TARGA con LPV/r muestran una menor alteración de su perfil lipídico durante el tratamiento, precisan de menos cambios en el TAR y muestran una tendencia a mantener CV más bajas que los niños exclusivamente infectados por el VIH. No obstante, la coinfección

por el VHC se asocia a niveles más elevados de transaminasas durante el seguimiento.

9. En los niños infectados por el VIH con TARGA el uso de LPV/r a altas dosis no se asocia a un incremento en los efectos secundarios observados. Los niños que reciben dosis más bajas de LPV/r logran una menor recuperación inmunológica durante el TARGA, aunque a su vez, mantienen CV más bajas durante el seguimiento.
10. La presencia de fármacos nuevos al iniciar el TARGA con LPV/r se asocia a una mayor recuperación inmunológica en los niños infectados por el VIH y a una supresión virológica más marcada solo en los primeros meses de seguimiento.
11. En los niños con TARGA con LPV/r, con un seguimiento muy prolongado, el porcentaje de abandonos ocurre de manera constante a lo largo de todo el seguimiento y fundamentalmente debido a un fracaso terapéutico.
12. La presencia de mutaciones en el gen de la proteasa, compromete la respuesta virológica obtenida en los niños infectados por el VIH que comienzan un TARGA de rescate con LPV/r.
13. La elección de fármacos en la pauta TARGA con LPV/r según diferentes algoritmos de interpretación de los test genotípicos de resistencia como el desarrollado por la Universidad de *Stanford* o el *score* de mutaciones del LPV/r o las guías de la *IAS-USA panel*, contribuyen a mejorar la respuesta virológica observada en los niños infectados por VIH con TARGA de rescate con LPV/r.
14. En niños infectados por VIH que inician TARGA con LPV/r sin alcanzar un adecuado control de la CV, existe la posibilidad de la acumulación progresiva de nuevas mutaciones en el gen de la proteasa.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Merson MH. The HIV-AIDS pandemic at 25--the global response. *N Engl J Med* 2006;354(23):2414-7.
2. Sepkowitz KA. One disease, two epidemics--AIDS at 25. *N Engl J Med* 2006;354(23):2411-4.
3. Gortmaker SL, Hughes M, Cervia J, et al. Effect of combination therapy including protease inhibitors on mortality among children and adolescents infected with HIV-1. *N Engl J Med* 2001;345(21):1522-8.
4. Palella FJ, Jr., Delaney KM, Moorman AC, et al. Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. HIV Outpatient Study Investigators. *N Engl J Med* 1998;338(13):853-60.
5. Ahmad K. HIV drug companies must meet needs of children. *Lancet Infect Dis* 2006;6(1):12.
6. Apetrei C, Marx PA, Smith SM. The evolution of HIV and its consequences. *Infect Dis Clin North Am* 2004;18(2):369-94.
7. Pillay D, Walker AS, Gibb DM, et al. Impact of human immunodeficiency virus type 1 subtypes on virologic response and emergence of drug resistance among children in the Paediatric European Network for Treatment of AIDS (PENTA) 5 trial. *J Infect Dis* 2002;186(5):617-25.
8. Holguin A, Alvarez A, Soriano V. High prevalence of HIV-1 subtype G and natural polymorphisms at the protease gene among HIV-infected immigrants in Madrid. *Aids* 2002;16(8):1163-70.
9. Holguin A, Ramirez de Arellano E, Rivas P, et al. Efficacy of antiretroviral therapy in individuals infected with HIV-1 non-B subtypes. *AIDS Rev* 2006;8(2):98-107.
10. Sa-Ferreira JA, Brindeiro PA, Chequer-Fernandez S, et al. Human immunodeficiency virus-1 subtypes and antiretroviral drug resistance profiles among drug-naïve Brazilian blood donors. *Transfusion* 2007;47(1):97-102.
11. Sierra S, Kupfer B, Kaiser R. Basics of the virology of HIV-1 and its replication. *J Clin Virol* 2005;34(4):233-44.
12. Forsell MN, Li Y, Sundback M, et al. Biochemical and immunogenic characterization of soluble human immunodeficiency virus type 1 envelope glycoprotein trimers expressed by semliki forest virus. *J Virol* 2005;79(17):10902-14.
13. Briggs JA, Wilk T, Welker R, et al. Structural organization of authentic, mature HIV-1 virions and cores. *Embo J* 2003;22(7):1707-15.
14. Frankel AD, Young JA. HIV-1: fifteen proteins and an RNA. *Annu Rev Biochem* 1998(67):1-25.
15. Kwong PD, Wyatt R, Robinson J, et al. Structure of an HIV gp120 envelope glycoprotein in complex with the CD4 receptor and a neutralizing human antibody. *Nature* 1998;393(6686):648-59.
16. Tamamura H, Otaka A, Fujii N. Development of anti-HIV agents targeting dynamic supramolecular mechanism: entry and fusion inhibitors based on CXCR4/CCR5 antagonists and gp41-C34-remodeling peptides. *Curr HIV Res* 2005;3(4):289-301.
17. Klatzmann D, Champagne E, Chamaret S, et al. lymphocyte T4 molecule behaves as receptor for human retrovirus LAV. *Nature* 1984;312:767-76856.
18. Dragic T, Litwin V, Allaway G, et al. HIV-1 entry into CD4+ cells is mediated by the chemokine receptor CC-CKR-5. *Nature* 1996;381:667-673.

19. Popov S, Rexach M, Zybarth G, et al. Viral protein R regulates nuclear import of the HIV-1 pre-integration complex. *Embo J* 1998;17(4):909-17.
20. Bukrinsky MI, Stanwick TL, Dempsey MP, et al. Quiescent T lymphocytes as an inducible virus reservoir in HIV-1 infection. *Science* 1991;254(5030):423-7.
21. Persaud D, Zhou Y, Siliciano JM, et al. Latency in human immunodeficiency virus type 1 infection: no easy answers. *J Virol* 2003;77(3):1659-65.
22. Chun TW, Davey RT, Jr., Ostrowski M, et al. Relationship between pre-existing viral reservoirs and the re-emergence of plasma viremia after discontinuation of highly active anti-retroviral therapy. *Nat Med* 2000;6(7):757-61.
23. Henderson LE, Bowers MA, Sowder RC, et al. Gap proteins of the highly replicative MN strain of human immunodeficiency virus type 1: posttranslational modifications, proteolytic processings, and complete amino acid sequences. *J Virol* 1992;66:1856-1865.
24. Wei X, Ghosh SK, Taylor ME, et al. Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1 infection. *Nature* 1995;373(6510):117-22.
25. Ho DD, Neumann AU, Perelson AS, et al. Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. *Nature* 1995;373(6510):123-6.
26. Perelson AS, Neumann AU, Markowitz M, et al. HIV-1 dynamics in vivo: virion clearance rate, infected cell life-span, and viral generation time. *Science* 1996;271(5255):1592-4.
27. Bebenek K, Abbotts J, Roberts JD, et al. Specificity and mechanism of error-prone replication by human immunodeficiency virus-1 reverse transcriptase. *J Biol Chem* 1989;264(28):16948-56.
28. Coffin JM. HIV population dynamics in vivo: implications for genetic variation, pathogenesis, and therapy. *Science* 1995;267(5197):538-9.
29. Rambaut A, Posada D, Crandall KA, et al. The causes and consequences of HIV evolution. *Nat Rev Genet* 2004;5(1):52-61.
30. Clavel F, Race E, Mammano F. HIV drug resistance and viral fitness. *Adv Pharmacol* 2000;49:41-66.
31. Maeda Y, Venzon DJ, Mitsuya H. Altered drug sensitivity, fitness, and evolution of human immunodeficiency virus type 1 with pol gene mutations conferring multidideoxynucleoside resistance. *J Infect Dis* 1998;177(5):1207-13.
32. Berkhout B. HIV-1 evolution under pressure of protease inhibitors: climbing the stairs of viral fitness. *J Biomed Sci* 1999;6(5):298-305.
33. Nijhuis M, Schuurman R, de Jong D, et al. Increased fitness of drug resistant HIV-1 protease as a result of acquisition of compensatory mutations during suboptimal therapy. *Aids* 1999;13(17):2349-59.
34. Levy J, Shimabukuro J, McHugh T, et al. AIDS-associated retroviruses (ARV) can productively infect other cells besides human T helper cells. *Virology* 1985;147:441-448.
35. Briggs DR, Tuttle DL, Sleasman JW, et al. Envelope V3 amino acid sequence predicts HIV-1 phenotype (co-receptor usage and tropism for macrophages). *Aids* 2000;14(18):2937-9.
36. Fenyo EM, Albert J, Asjo B. Replicative capacity, cytopathic effect and cell tropism of HIV. *AIDS* 1989;3(Suppl 1):S97-100.

37. Deng H, Liu R, Ellmeier W, et al. Identification of a major co-receptor for primary isolates of HIV-1. *Nature* 1996;381:661-666.
38. Richman DD, Bozzette SA. The impact of the syncytium-inducing phenotype of human immunodeficiency virus on disease progression. *J Infect Dis* 1994;169(5):968-74.
39. Galan I, Jimenez JL, Gonzalez-Rivera M, et al. Virological phenotype switches under salvage therapy with lopinavir-ritonavir in heavily pretreated HIV-1 vertically infected children. *Aids* 2004;18(2):247-55.
40. Samson M, Libert F, Doranz BJ, et al. Resistance to HIV-1 infection in caucasian individuals bearing mutant alleles of the CCR-5 chemokine receptor gene. *Nature* 1996;382(6593):722-5.
41. Salem AH, Batzer MA. Distribution of the HIV resistance CCR5-Delta32 allele among Egyptians and Syrians. *Mutat Res* 2007;616(1-2):175-80.
42. Carrington M, Dean M, Martin MP, et al. Genetics of HIV-1 infection: chemokine receptor CCR5 polymorphism and its consequences. *Hum Mol Genet* 1999;8(10):1939-45.
43. Alexander L, Cuchura L, Simpson BJ, et al. Virologic and host characteristics of human immunodeficiency virus type 1-infected pediatric long term survivors. *Pediatr Infect Dis J* 2006;25(2):135-41.
44. Paul ME, Mao C, Charurat M, et al. Predictors of immunologic long-term nonprogression in HIV-infected children: Implications for initiating therapy. *J Allergy Clin Immunol* 2005;115(4):848-55.
45. Kourtis AP, Lee FK, Abrams EJ, et al. Mother-to-child transmission of HIV-1: timing and implications for prevention. *Lancet Infect Dis* 2006;6(11):726-32.
46. Cooper ER, Charurat M, Mofenson L, et al. Combination antiretroviral strategies for the treatment of pregnant HIV-1-infected women and prevention of perinatal HIV-1 transmission. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2002;29(5):484-94.
47. Thior I, Lockman S, Smeaton LM, et al. Breastfeeding plus infant zidovudine prophylaxis for 6 months vs formula feeding plus infant zidovudine for 1 month to reduce mother-to-child HIV transmission in Botswana: a randomized trial: the Mashi Study. *Jama* 2006;296(7):794-805.
48. Connor EM, Sperling RS, Gelber R, et al. Reduction of maternal-infant transmission of human immunodeficiency virus type 1 with zidovudine treatment. Pediatric AIDS Clinical Trials Group Protocol 076 Study Group. *N Engl J Med* 1994;331(18):1173-80.
49. Lockman S, Shapiro RL, Smeaton LM, et al. Response to antiretroviral therapy after a single, peripartum dose of nevirapine. *N Engl J Med* 2007;356(2):135-47.
50. The mother-to-child HIV transmission epidemic in Europe: evolving in the East and established in the West. *Aids* 2006;20(10):1419-27.
51. Macassa E, Burgard M, Veber F, et al. Characteristics of HIV-infected children recently diagnosed in Paris, France. *Eur J Pediatr* 2006;165(10):684-7.
52. Hawkins D, Blott M, Clayden P, et al. Guidelines for the management of HIV infection in pregnant women and the prevention of mother-to-child transmission of HIV. *HIV Med* 2005;6 Suppl 2:107-48.
53. Foster C, Lyall EG. Children with HIV: improved mortality and morbidity with combination antiretroviral therapy. *Curr Opin Infect Dis* 2005;18(3):253-9.

54. van Rossum AM, Fraaij PL, de Groot R. Efficacy of highly active antiretroviral therapy in HIV-1 infected children. *Lancet Infect Dis* 2002;2(2):93-102.
55. Resino S, Jiménez JL, Gurbindo D, et al. Prognostic markers of survival in infants younger than twelve months of age vertically infected by human immunodeficiency virus type-1. *Med Clin (Barc)* 1999;113:561-566.
56. Anabwani GM, Woldetsadik EA, Kline MW. Treatment of human immunodeficiency virus (HIV) in children using antiretroviral drugs. *Semin Pediatr Infect Dis* 2005;16(2):116-24.
57. Mayaux MJ, Burgard M, Teglas JP, et al. Neonatal characteristics in rapidly progressive perinatally acquired HIV-1 disease. The French Pediatric HIV Infection Study Group. *JAMA* 1996;275(8):606-10.
58. Abrams EJ, Wiener J, Carter R, et al. Maternal health factors and early pediatric antiretroviral therapy influence the rate of perinatal HIV-1 disease progression in children. *Aids* 2003;17(6):867-77.
59. Bryson YJ, Luzuriaga K, Sullivan JL, et al. Proposed definitions for in utero versus intrapartum transmission of HIV-1 [letter]. *Presse Med* 1992;21(35):1686.
60. CDCP. Revised classification system for human immunodeficiency virus infection in children less than 13 years of age. *MMWR CDC Surveill Summ* 1994;43(RR-12):1-10.
61. Resino S, Jiménez JL, Gurbindo D, et al. Infección primaria en niños VIH-1 infectados verticalmente: características biológicas de los aislados virales, carga viral y linfocitos T CD4+. *An Esp Pediatr* 1999;51(5):469-474.
62. Ylitalo N, Brogly S, Hughes MD, et al. Risk factors for opportunistic illnesses in children with human immunodeficiency virus in the era of highly active antiretroviral therapy. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2006;160(8):778-87.
63. Harwell JI, Obaro SK. Antiretroviral therapy for children: substantial benefit but limited access. *Jama* 2006;296(3):330-1.
64. Rouet F, Fassinou P, Inwoley A, et al. Long-term survival and immuno-virological response of African HIV-1-infected children to highly active antiretroviral therapy regimens. *Aids* 2006;20(18):2315-9.
65. Doerholt K, Duong T, Tookey P, et al. Outcomes for human immunodeficiency virus-1-infected infants in the United kingdom and Republic of Ireland in the era of effective antiretroviral therapy. *Pediatr Infect Dis J* 2006;25(5):420-6.
66. Ramos JT, de Jose MI, Polo R, et al. [Recommendations of the CEVIHP/SEIP/AEP/PNS on antiretroviral treatment in HIV-infected children and teenagers]. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2005;23(5):279-312.
67. Buchacz K, Cervia JS, Lindsey JC, et al. Impact of protease inhibitor-containing combination antiretroviral therapies on height and weight growth in HIV-infected children. *Pediatrics* 2001;108(4):E72.
68. Bekker V, Scherpbier HJ, Steingrover R, et al. Viral dynamics after starting first-line HAART in HIV-1-infected children. *Aids* 2006;20(4):517-23.
69. Faye A. [New challenges in therapeutic management of human immunodeficiency virus-infected children]. *Arch Pediatr* 2007;14(2):212-8.
70. Doerholt K, Sharland M, Ball C, et al. Paediatric antiretroviral therapy audit in South London. *HIV Med* 2002;3(1):44-8.

71. Puthanakit T, Oberdorfer P, Akarathum N, et al. Immune reconstitution syndrome after highly active antiretroviral therapy in human immunodeficiency virus-infected thai children. *Pediatr Infect Dis J* 2006;25(1):53-8.
72. UNAIDS/WHO. AIDS epidemic update. In; 2006.
73. The devastating effects of HIV/AIDS on children. *Lancet* 2006;368(9534):424.
74. Kober K, Van Damme W. Scaling up access to antiretroviral treatment in southern Africa: who will do the job? *Lancet* 2004;364(9428):103-7.
75. CEVIHP. Colaborativo Español para la infección VIH pediátrica. Manual práctico de la infección por VIH en el niño. 2ª ed. Barcelona-Philadelphia; 2000.
76. Centro Nacional de Epidemiología (CNE). Instituto de Salud Carlos III. Informe trimestral nº 12/133-144 del Registro Nacional de SIDA. In: *MMWR*; 20005; 20005.
77. Paul MO, Toedter G, Hofheinz D, et al. Diagnosis of human immunodeficiency virus type 1 infection in infants by immune complex dissociation p24 assay. *Clin Diagn Lab Immunol* 1997;4(1):75-8.
78. Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in Pediatric HIV Infection. Accessed at <http://AIDSinfo.nih.gov> on 26th October 2006. In; October 26, 2006.
79. Pugatch D. Testing infants for human immunodeficiency virus infection. *Pediatr Infect Dis J* 2002;21(7):711-2.
80. Blankson JN, Finzi D, Pierson TC, et al. Biphasic decay of latently infected CD4+ T cells in acute human immunodeficiency virus type 1 infection. *J Infect Dis* 2000;182(6):1636-42.
81. Appay V, Papagno L, Spina CA, et al. Dynamics of T cell responses in HIV infection. *J Immunol* 2002;168(7):3660-6.
82. Saitoh A, Singh KK, Sandall S, et al. Association of CD4+ T-lymphocyte counts and new thymic emigrants in HIV-infected children during successful highly active antiretroviral therapy. *J Allergy Clin Immunol* 2006;117(4):909-15.
83. Resino S, Gurbindo M, Bellón J, et al. Predictive markers of clinical outcome in vertically HIV-1 infected infants. A prospective longitudinal study. *Pediatr Res* 2000;47(4):509-515.
84. Resino S, Abad ML, Bellon JM, et al. Variación del perfil inmunológico según progresa la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana en niños tratados con terapia antirretroviral. *Med Clin (Barc)* 2002;118(7):241-6.
85. Champagne P, Ogg GS, King AS, et al. Skewed maturation of memory HIV-specific CD8 T lymphocytes. *Nature* 2001;410(6824):106-11.
86. Resino S, Bellon JM, Sanchez-Ramon S, et al. Impact of antiretroviral protocols on dynamics of AIDS progression markers. *Arch Dis Child* 2002;86(2):119-24.
87. Giorgi JV, Ho HN, Hirji K, et al. CD8+ lymphocyte activation at human immunodeficiency virus type 1 seroconversion: development of HLA-DR+ CD38- CD8+ cells is associated with subsequent stable CD4+ cell levels. *J Infect Dis* 1994;170:775-781.
88. Resino S, Bellón JM, Sanchez-Ramon S, et al. CD8+ T-cells predict viral response to highly active antiretroviral therapy in HIV-1-infected children. *Pediatr Res* 2003;53(2):309-312.
89. Niehues T, Horneff G, Knipp S, et al. Treatment-resistant expansion of CD8+CD28- cells in pediatric HIV infection. *Pediatr Res* 2000;47(3):418-21.

90. Appay V, Dunbar PR, Callan M, et al. Memory CD8+ T cells vary in differentiation phenotype in different persistent virus infections. *Nat Med* 2002;8(4):379-85.
91. Tovo PA, de Martino M, Gabiano C, et al. Prognostic factors and survival in children with perinatal HIV-1 infection. The Italian Register for HIV Infections in Children. *Lancet* 1992;339(8804):1249-53.
92. Dunn D. Short-term risk of disease progression in HIV-1-infected children receiving no antiretroviral therapy or zidovudine monotherapy: a meta-analysis. *Lancet* 2003;362(9396):1605-11.
93. Shearer WT, Rosenblatt HM, Gelman RS, et al. Lymphocyte subsets in healthy children from birth through 18 years of age: the Pediatric AIDS Clinical Trials Group P1009 study. *J Allergy Clin Immunol* 2003;112(5):973-80.
94. Predictive value of absolute CD4 cell count for disease progression in untreated HIV-1-infected children. *Aids* 2006;20(9):1289-94.
95. Shearer WT, Quinn TC, LaRussa P, et al. Viral load and disease progression in infants infected with human immunodeficiency virus type 1. Women and Infants Transmission Study Group. *N Engl J Med* 1997;336(19):1337-42.
96. Palumbo PE, Raskino C, Fiscus S, et al. Predictive value of quantitative plasma HIV RNA and CD4+ lymphocyte count in HIV-infected infants and children. *JAMA* 1998;279(10):756-61.
97. Mofenson LM, Korelitz J, Meyer WA, 3rd, et al. The relationship between serum human immunodeficiency virus type 1 (HIV- 1) RNA level, CD4 lymphocyte percent, and long-term mortality risk in HIV-1-infected children. National Institute of Child Health and Human Development Intravenous Immunoglobulin Clinical Trial Study Group. *J Infect Dis* 1997;175(5):1029-38.
98. Sharland M, Blanche S, Castelli G, et al. PENTA guidelines for the use of antiretroviral therapy, 2004. *HIV Med* 2004;5 Suppl 2:61-86.
99. Ramos Amador JT, Mellado Pena MJ. [Update on antiretroviral treatment in HIV infection]. *An Pediatr (Barc)* 2004;60(3):254-61.
100. Kimberlin DW. Antiviral therapies in children: has their time arrived? *Pediatr Clin North Am* 2005;52(3):837-67, vii.
101. Chang YC, Tying SK. Therapy of HIV infection. *Dermatol Ther* 2004;17(6):449-64.
102. Havens PL. Principles of antiretroviral treatment of children and adolescents with human immunodeficiency virus infection. *Semin Pediatr Infect Dis* 2003;14(4):269-85.
103. Paterson DL, Swindells S, Mohr J, et al. Adherence to protease inhibitor therapy and outcomes in patients with HIV infection. *Ann Intern Med* 2000;133(1):21-30.
104. Buchacz K, Rogol AD, Lindsey JC, et al. Delayed onset of pubertal development in children and adolescents with perinatally acquired HIV infection. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2003;33(1):56-65.
105. Reiss JG, Gibson RW, Walker LR. Health care transition: youth, family, and provider perspectives. *Pediatrics* 2005;115(1):112-20.
106. Rosen DS, Blum RW, Britto M, et al. Transition to adult health care for adolescents and young adults with chronic conditions: position paper of the Society for Adolescent Medicine. *J Adolesc Health* 2003;33(4):309-11.

107. Giacomet V, Albano F, Starace F, et al. Adherence to antiretroviral therapy and its determinants in children with human immunodeficiency virus infection: a multicentre, national study. *Acta Paediatr* 2003;92(12):1398-402.
108. Neely M, Kovacs A. Management of antiretroviral therapy in neonates, children, and adolescents. *Curr HIV/AIDS Rep* 2004;1(2):97-104.
109. Resino S, Correa R, Bellon J, et al. Characterizing Immune Reconstitution after Long-Term HAART in Pediatric AIDS. *AIDS Res Hum Retrovir* 2002;18(18):1395-1406.
110. de Martino M, Tovo PA, Balducci M, et al. Reduction in mortality with availability of antiretroviral therapy for children with perinatal HIV-1 infection. Italian Register for HIV Infection in Children and the Italian National AIDS Registry. *JAMA* 2000;284(2):190-7.
111. Bertolli J, Hsu HW, Sukalac T, et al. Hospitalization trends among children and youths with perinatal human immunodeficiency virus infection, 1990-2002. *Pediatr Infect Dis J* 2006;25(7):628-33.
112. FDAdata. Drugs used in the treatment of HIV infection. Available from <http://www.fda.gov/oashi/aids/virals.html>. In; 2006.
113. Fischl MA, Richman DD, Grieco MH, et al. The efficacy of azidothymidine (AZT) in the treatment of patients with AIDS and AIDS-related complex. A double-blind, placebo-controlled trial. *N Engl J Med* 1987;317(4):185-91.
114. Luzuriaga K, Bryson Y, Krogstad P, et al. Combination treatment with zidovudine, didanosine, and nevirapine in infants with human immunodeficiency virus type 1 infection. *N Engl J Med* 1997;336(19):1343-9.
115. Collier AC, Coombs RW, Fischl MA, et al. Combination therapy with zidovudine and didanosine compared with zidovudine alone in HIV-1 infection. *Ann Intern Med* 1993;119(8):786-93.
116. Ren J, Stammers DK. HIV reverse transcriptase structures: designing new inhibitors and understanding mechanisms of drug resistance. *Trends Pharmacol Sci* 2005;26(1):4-7.
117. Gallant JE, Staszewski S, Pozniak AL, et al. Efficacy and safety of tenofovir DF vs stavudine in combination therapy in antiretroviral-naïve patients: a 3-year randomized trial. *Jama* 2004;292(2):191-201.
118. Mocroft A, Ledergerber B, Katlama C, et al. Decline in the AIDS and death rates in the EuroSIDA study: an observational study. *Lancet* 2003;362(9377):22-9.
119. Ford J, Khoo SH, Back DJ. The intracellular pharmacology of antiretroviral protease inhibitors. *J Antimicrob Chemother* 2004;54(6):982-90.
120. Greenberg M, Cammack N, Salgo M, et al. HIV fusion and its inhibition in antiretroviral therapy. *Rev Med Virol* 2004;14(5):321-37.
121. Verweel G, Saavedra-Lozano J, van Rossum AM, et al. Initiating highly active antiretroviral therapy in human immunodeficiency virus type 1-infected children in Europe and the United States: comparing clinical practice to guidelines and literature evidence. *Pediatr Infect Dis J* 2006;25(11):987-94.
122. Hainaut M, Ducarme M, Schandene L, et al. Age-related immune reconstitution during highly active antiretroviral therapy in human immunodeficiency virus type 1-infected children. *Pediatr Infect Dis J* 2003;22(1):62-9.
123. Resino S, Bellon JM, Gurbindo D, et al. Recovery of T-cell subsets after antiretroviral therapy in HIV-infected children. *Eur J Clin Invest* 2003;33(7):619-27.

124. Gray L, Newell ML, Thorne C, et al. Fluctuations in symptoms in human immunodeficiency virus-infected children: the first 10 years of life. *Pediatrics* 2001;108(1):116-22.
125. Chiappini E, Galli L, Tovo PA, et al. Virologic, immunologic, and clinical benefits from early combined antiretroviral therapy in infants with perinatal HIV-1 infection. *Aids* 2006;20(2):207-15.
126. Hainaut M, Peltier CA, Gerard M, et al. Effectiveness of antiretroviral therapy initiated before the age of 2 months in infants vertically infected with human immunodeficiency virus type 1. *Eur J Pediatr* 2000;159(10):778-82.
127. Luzuriaga K, McManus M, Catalina M, et al. Early therapy of vertical human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) infection: control of viral replication and absence of persistent HIV-1-specific immune responses. *J Virol* 2000;74(15):6984-91.
128. Faye A, Bertone C, Teglas JP, et al. Early multitherapy including a protease inhibitor for human immunodeficiency virus type 1-infected infants. *Pediatr Infect Dis J* 2002;21(6):518-25.
129. Aboulker JP, Babiker A, Chaix ML, et al. Highly active antiretroviral therapy started in infants under 3 months of age: 72-week follow-up for CD4 cell count, viral load and drug resistance outcome. *Aids* 2004;18(2):237-45.
130. Sanchez-Ramon S, Resino S, Bellon Cano JM, et al. Neuroprotective effects of early antiretrovirals in vertical HIV infection. *Pediatr Neurol* 2003;29(3):218-21.
131. Saavedra-Lozano J, Ramos JT, Sanz F, et al. Salvage therapy with abacavir and other reverse transcriptase inhibitors for human immunodeficiency-associated encephalopathy. *Pediatr Infect Dis J* 2006;25(12):1142-52.
132. Chiappini E, Galli L, Gabiano C, et al. Early triple therapy vs mono or dual therapy for children with perinatal HIV infection. *Jama* 2006;295(6):626-8.
133. Faye A, Le Chenadec J, Dollfus C, et al. Early versus deferred antiretroviral multidrug therapy in infants infected with HIV type 1. *Clin Infect Dis* 2004;39(11):1692-8.
134. Cohan D, Feakins C, Wara D, et al. Perinatal transmission of multidrug-resistant HIV-1 despite viral suppression on an enfuvirtide-based treatment regimen. *Aids* 2005;19(9):989-90.
135. Kamkamidze G, Sullivan T, Charbonneau T. Occurrence of HIV-1 reverse transcriptase gene mutation at codon 215 in HIV-infected infants. *J Clin Virol* 2001;22(1):143-8.
136. Luzuriaga K, McManus M, Mofenson L, et al. A trial of three antiretroviral regimens in HIV-1-infected children. *N Engl J Med* 2004;350(24):2471-80.
137. Chadwick EG, Rodman JH, Britto P, et al. Ritonavir-based highly active antiretroviral therapy in human immunodeficiency virus type 1-infected infants younger than 24 months of age. *Pediatr Infect Dis J* 2005;24(9):793-800.
138. Crommentuyn KM, Kappelhoff BS, Mulder JW, et al. Population pharmacokinetics of lopinavir in combination with ritonavir in HIV-1-infected patients. *Br J Clin Pharmacol* 2005;60(4):378-89.
139. Delaugerre C, Teglas JP, Treluyer JM, et al. Predictive Factors of Virologic Success in HIV-1-Infected Children Treated With Lopinavir/Ritonavir. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2004;37(2):1269-1275.

140. Burger DM, Bergshoeff AS, De Groot R, et al. Maintaining the nelfinavir trough concentration above 0.8 mg/L improves virologic response in HIV-1-infected children. *J Pediatr* 2004;145(3):403-5.
141. Bonjoch A, Paredes R, Galvez J, et al. Antiretroviral treatment simplification with 3 NRTIs or 2 NRTIs plus nevirapine in HIV-1-infected patients treated with successful first-line HAART. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005;39(3):313-6.
142. van Leth F, Andrews S, Grinsztejn B, et al. The effect of baseline CD4 cell count and HIV-1 viral load on the efficacy and safety of nevirapine or efavirenz-based first-line HAART. *Aids* 2005;19(5):463-71.
143. van Leth F, Phanuphak P, Ruxrungtham K, et al. Comparison of first-line antiretroviral therapy with regimens including nevirapine, efavirenz, or both drugs, plus stavudine and lamivudine: a randomised open-label trial, the 2NN Study. *Lancet* 2004;363(9417):1253-63.
144. Manfredi R, Calza L, Chiodo F. Efavirenz versus nevirapine in current clinical practice: a prospective, open-label observational study. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2004;35(5):492-502.
145. Verweel G, Sharland M, Lyall H, et al. Nevirapine use in HIV-1-infected children. *Aids* 2003;17(11):1639-47.
146. Manfredi R, Calza L, Chiodo F. First-line efavirenz versus lopinavir-ritonavir-based highly active antiretroviral therapy for naive patients. *Aids* 2004;18(17):2331-3.
147. Torti C, Maggiolo F, Patroni A, et al. Exploratory analysis for the evaluation of lopinavir/ritonavir-versus efavirenz-based HAART regimens in antiretroviral-naïve HIV-positive patients: results from the Italian MASTER Cohort. *J Antimicrob Chemother* 2005;56(1):190-5.
148. Waters L, John L, Nelson M. Non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors: a review. *Int J Clin Pract* 2007;61(1):105-18.
149. Pulido F, Arribas JR, Miro JM, et al. Clinical, virologic, and immunologic response to efavirenz-or protease inhibitor-based highly active antiretroviral therapy in a cohort of antiretroviral-naïve patients with advanced HIV infection (EfaVIP 2 study). *J Acquir Immune Defic Syndr* 2004;35(4):343-50.
150. Panagopoulos P, Tsiodras S, Antoniadou A, et al. Efficacy and safety of an anti-retroviral combination regimen including either efavirenz or lopinavir-ritonavir with a backbone of two nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *Clin Microbiol Infect* 2006;12(5):486-9.
151. Pensiero S, Romiti ML, Palma P, et al. Switching from protease inhibitor-based-HAART to a protease inhibitor-sparing regimen is associated with improved specific HIV-immune responses in HIV-infected children. *Aids* 2006;20(14):1893-6.
152. Resino S, Larru B, Maria Bellon J, et al. Effects of highly active antiretroviral therapy with nelfinavir in vertically HIV-1 infected children: 3 years of follow-up. Long-term response to nelfinavir in children. *BMC Infect Dis* 2006;6:107.
153. Walmsley S, Bernstein B, King M, et al. Lopinavir-ritonavir versus nelfinavir for the initial treatment of HIV infection. *N Engl J Med* 2002;346(26):2039-46.
154. King JR, Nachman S, Yogev R, et al. Efficacy, tolerability and pharmacokinetics of two nelfinavir-based regimens in human immunodeficiency virus-infected children and adolescents: pediatric AIDS clinical trials group protocol 403. *Pediatr Infect Dis J* 2005;24(10):880-5.

155. King MS, Brun SC, Kempf DJ. Relationship between adherence and the development of resistance in antiretroviral-naïve, HIV-1-infected patients receiving lopinavir/ritonavir or nelfinavir. *J Infect Dis* 2005;191(12):2046-52.
156. Kempf DJ, King MS, Bernstein B, et al. Incidence of resistance in a double-blind study comparing lopinavir/ritonavir plus stavudine and lamivudine to nelfinavir plus stavudine and lamivudine. *J Infect Dis* 2004;189(1):51-60.
157. De Luca M, Miccinesi G, Chiappini E, et al. Different kinetics of immunologic recovery using nelfinavir or lopinavir/ritonavir-based regimens in children with perinatal HIV-1 infection. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2005;18(4):729-35.
158. Moore DM, Hogg RS, Yip B, et al. Regimen-dependent variations in adherence to therapy and virological suppression in patients initiating protease inhibitor-based highly active antiretroviral therapy. *HIV Med* 2006;7(5):311-6.
159. Katlama C, Fenske S, Gazzard B, et al. TRIZAL study: switching from successful HAART to Trizivir (abacavir-lamivudine-zidovudine combination tablet): 48 weeks efficacy, safety and adherence results. *HIV Med* 2003;4(2):79-86.
160. Gibb DM, Walker AS, Kaye S, et al. Evolution of antiretroviral phenotypic and genotypic drug resistance in antiretroviral-naïve HIV-1-infected children treated with abacavir/lamivudine, zidovudine/lamivudine or abacavir/zidovudine, with or without nelfinavir (the PENTA 5 trial). *Antivir Ther* 2002;7(4):293-303.
161. Gallant JE, DeJesus E, Arribas JR, et al. Tenofovir DF, emtricitabine, and efavirenz vs. zidovudine, lamivudine, and efavirenz for HIV. *N Engl J Med* 2006;354(3):251-60.
162. King JR, Nachman S, Yogev R, et al. Single-dose pharmacokinetics of enteric-coated didanosine in HIV-infected children. *Antivir Ther* 2002;7(4):267-70.
163. LePrevost M, Green H, Flynn J, et al. Adherence and acceptability of once daily Lamivudine and abacavir in human immunodeficiency virus type-1 infected children. *Pediatr Infect Dis J* 2006;25(6):533-7.
164. Temesgen Z, Cainelli F, Poeschla EM, et al. Approach to salvage antiretroviral therapy in heavily antiretroviral-experienced HIV-positive adults. *Lancet Infect Dis* 2006;6(8):496-507.
165. Hammami N, Nostlinger C, Hoeree T, et al. Integrating adherence to highly active antiretroviral therapy into children's daily lives: a qualitative study. *Pediatrics* 2004;114(5):e591-7.
166. Menson EN, Walker AS, Sharland M, et al. Underdosing of antiretrovirals in UK and Irish children with HIV as an example of problems in prescribing medicines to children, 1997-2005: cohort study. *Bmj* 2006;332(7551):1183-7.
167. Resino S, Bellón JM, Ramos JT, et al. Salvage antiretroviral therapy in HIV-infected children: advantages of lopinavir-ritonavir. *Pediatr Infect Dis J* 2004;23(10):923-930.
168. Ananworanich J, Kosalaraksa P, Hill A, et al. Pharmacokinetics and 24-week efficacy/safety of dual boosted saquinavir/lopinavir/ritonavir in nucleoside-pretreated children. *Pediatr Infect Dis J* 2005;24(10):874-9.
169. Gafni RI, Hazra R, Reynolds JC, et al. Tenofovir disoproxil fumarate and an optimized background regimen of antiretroviral agents as salvage therapy: impact on bone mineral density in HIV-infected children. *Pediatrics* 2006;118(3):e711-8.

170. Naeger LK, Struble KA. Food and Drug Administration analysis of tipranavir clinical resistance in HIV-1-infected treatment-experienced patients. *Aids* 2007;21(2):179-85.
171. Baylor MS, Johann-Liang R. Enfuvirtide safety in human immunodeficiency virus-infected children. *Pediatr Infect Dis J* 2005;24(4):389-90.
172. Leonard EG, McComsey GA. Antiretroviral therapy in HIV-infected children: the metabolic cost of improved survival. *Infect Dis Clin North Am* 2005;19(3):713-29.
173. Carter RJ, Wiener J, Abrams EJ, et al. Dyslipidemia among perinatally HIV-infected children enrolled in the PACTS-HOPE cohort, 1999-2004: a longitudinal analysis. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2006;41(4):453-60.
174. Dzwonek AB, Lawson MS, Cole TJ, et al. Body fat changes and lipodystrophy in HIV-infected children: impact of highly active antiretroviral therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2006;43(1):121-3.
175. Valerio L, Fontas E, Pradier C, et al. Lopinavir/ritonavir combination and total/HDL cholesterol ratio. *J Infect* 2005;50(3):229-35.
176. Montes ML, Pulido F, Barros C, et al. Lipid disorders in antiretroviral-naive patients treated with lopinavir/ritonavir-based HAART: frequency, characterization and risk factors. *J Antimicrob Chemother* 2005;55(5):800-4.
177. Macassa E, Delaugerre C, Teglas JP, et al. Change to a once-daily combination including boosted atazanavir in HIV-1-infected children. *Pediatr Infect Dis J* 2006;25(9):809-14.
178. Beregszaszi M, Dollfus C, Levine M, et al. Longitudinal evaluation and risk factors of lipodystrophy and associated metabolic changes in HIV-infected children. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005;40(2):161-8.
179. Rhoads MP, Smith CJ, Tudor-Williams G, et al. Effects of highly active antiretroviral therapy on paediatric metabolite levels. *HIV Med* 2006;7(1):16-24.
180. Samaras K, Wand H, Law M, et al. Prevalence of metabolic syndrome in HIV-infected patients receiving highly active antiretroviral therapy using International Diabetes Foundation and Adult Treatment Panel III criteria: associations with insulin resistance, disturbed body fat compartmentalization, elevated C-reactive protein, and [corrected] hypoadiponectinemia. *Diabetes Care* 2007;30(1):113-9.
181. Ene L, Goetghebuer T, Hainaut M, et al. Prevalence of lipodystrophy in HIV-infected children: a cross-sectional study. *Eur J Pediatr* 2007;166(1):13-21.
182. Hartman K, Verweel G, de Groot R, et al. Detection of lipoatrophy in human immunodeficiency virus-1-infected children treated with highly active antiretroviral therapy. *Pediatr Infect Dis J* 2006;25(5):427-31.
183. Cane PA. Stability of transmitted drug-resistant HIV-1 species. *Curr Opin Infect Dis* 2005;18(6):537-42.
184. Quinones-Mateu ME, Arts EJ. Fitness of drug resistant HIV-1: methodology and clinical implications. *Drug Resist Updat* 2002;5(6):224-33.
185. Geretti AM. Epidemiology of antiretroviral drug resistance in drug-naive persons. *Curr Opin Infect Dis* 2007;20(1):22-32.
186. Machado ES, Lambert JS, Watson DC, et al. Genotypic resistance and HIV-1 subtype in Brazilian children on dual and triple combination therapy. *J Clin Virol* 2004;30(1):24-31.

187. Ammaranond P, Cunningham P, Oelrichs R, et al. Rates of transmission of antiretroviral drug resistant strains of HIV-1. *J Clin Virol* 2003;26(2):153-61.
188. Gatanaga H, Ibe S, Matsuda M, et al. Drug-resistant HIV-1 prevalence in patients newly diagnosed with HIV/AIDS in Japan. *Antiviral Res* 2006.
189. Johnson VA, Brun-Vezinet F, Clotet B, et al. Update of the drug resistance mutations in HIV-1: Fall 2006. *Top HIV Med* 2006;14(3):125-30.
190. de Mendoza C, del Romero J, Rodriguez C, et al. Decline in the rate of genotypic resistance to antiretroviral drugs in recent HIV seroconverters in Madrid. *Aids* 2002;16(13):1830-2.
191. Rosina M, Micheli V, Besana S, et al. Genotyping in HIV drug resistance mutations: epidemiology in 145 patients. *Int J Antimicrob Agents* 2000;16(4):435-40.
192. Calmy A, Pascual F, Ford N. HIV drug resistance. *N Engl J Med* 2004;350(26):2720-1.
193. Mansky LM. HIV mutagenesis and the evolution of antiretroviral drug resistance. *Drug Resist Updat* 2002;5(6):219-23.
194. Gotte M, Wainberg MA. Biochemical mechanisms involved in overcoming HIV resistance to nucleoside inhibitors of reverse transcriptase. *Drug Resist Updat* 2000;3(1):30-38.
195. Schuurman R, Nijhuis M, van Leeuwen R, et al. Rapid changes in human immunodeficiency virus type 1 RNA load and appearance of drug-resistant virus populations in persons treated with lamivudine (3TC). *J Infect Dis* 1995;171(6):1411-9.
196. Schmit JC, Cogniaux J, Hermans P, et al. Multiple drug resistance to nucleoside analogues and nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors in an efficiently replicating human immunodeficiency virus type 1 patient strain. *J Infect Dis* 1996;174(5):962-8.
197. Winston A, Mandalia S, Pillay D, et al. The prevalence and determinants of the K65R mutation in HIV-1 reverse transcriptase in tenofovir-naïve patients. *Aids* 2002;16(15):2087-9.
198. Hanna GJ, Johnson VA, Kuritzkes DR, et al. Patterns of resistance mutations selected by treatment of human immunodeficiency virus type 1 infection with zidovudine, didanosine, and nevirapine. *J Infect Dis* 2000;181(3):904-11.
199. Miller V, Larder BA. Mutational patterns in the HIV genome and cross-resistance following nucleoside and nucleotide analogue drug exposure. *Antivir Ther* 2001;6 Suppl 3:25-44.
200. Meyer PR, Matsuura SE, Schinazi RF, et al. Differential removal of thymidine nucleotide analogues from blocked DNA chains by human immunodeficiency virus reverse transcriptase in the presence of physiological concentrations of 2'-deoxynucleoside triphosphates. *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44(12):3465-72.
201. Rusconi S, La Seta Catamancio S, Sheridan F, et al. A genotypic analysis of patients receiving Zidovudine with either Lamivudine, Didanosine or Zalcitabine dual therapy using the LiPA point mutation assay to detect genotypic variation at codons 41, 69, 70, 74, 184 and 215. *J Clin Virol* 2000;19(3):135-42.
202. Larder BA, Bloor S, Kemp SD, et al. A family of insertion mutations between codons 67 and 70 of human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase confer multinucleoside analog resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43(8):1961-7.

203. Parkin NT, Gupta S, Chappey C, et al. The K101P and K103R/V179D mutations in human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase confer resistance to nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50(1):351-4.
204. Bacheler LT, Anton ED, Kudish P, et al. Human immunodeficiency virus type 1 mutations selected in patients failing efavirenz combination therapy. *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44(9):2475-84.
205. Scosyrev E. An overview of the human immunodeficiency virus featuring laboratory testing for drug resistance. *Clin Lab Sci* 2006;19(4):231-45; quiz 246-9.
206. Hoffman NG, Schiffer CA, Swanstrom R. Covariation of amino acid positions in HIV-1 protease. *Virology* 2003;314(2):536-48.
207. Menendez-Arias L. Targeting HIV: antiretroviral therapy and development of drug resistance. *Trends Pharmacol Sci* 2002;23(8):381-8.
208. Fumero E, Podzamczar D. New patterns of HIV-1 resistance during HAART. *Clin Microbiol Infect* 2003;9(11):1077-84.
209. Kozal MJ, Hullsiek KH, Leduc R, et al. Prevalence and impact of HIV-1 protease codon 33 mutations and polymorphisms in treatment-naïve and treatment-experienced patients. *Antivir Ther* 2006;11(4):457-63.
210. Hoefnagel JG, van der Lee MJ, Koopmans PP, et al. The genotypic inhibitory quotient and the (cumulative) number of mutations predict the response to lopinavir therapy. *Aids* 2006;20(7):1069-71.
211. Shet A, Berry L, Mohri H, et al. Tracking the prevalence of transmitted antiretroviral drug-resistant HIV-1: a decade of experience. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2006;41(4):439-46.
212. de Bethune MP, Hertogs K. Screening and selecting for optimized antiretroviral drugs: rising to the challenge of drug resistance. *Curr Med Res Opin* 2006;22(12):2603-12.
213. Yeh RF, Gaver VE, Patterson KB, et al. Lopinavir/ritonavir induces the hepatic activity of cytochrome P450 enzymes CYP2C9, CYP2C19, and CYP1A2 but inhibits the hepatic and intestinal activity of CYP3A as measured by a phenotyping drug cocktail in healthy volunteers. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2006;42(1):52-60.
214. Marcelin AG, Chazallon C, Gerard L, et al. External validation of atazanavir/ritonavir genotypic score in HIV-1 protease inhibitor-experienced patients. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2006;42(1):127-8.
215. Gianotti N, Galli L, Danise A, et al. Ability of different lopinavir genotypic inhibitory quotients to predict 48-week virological response in highly treatment-experienced HIV-infected patients receiving lopinavir/ritonavir. *J Med Virol* 2006;78(12):1537-41.
216. Baxter JD, Schapiro JM, Boucher CA, et al. Genotypic changes in human immunodeficiency virus type 1 protease associated with reduced susceptibility and virologic response to the protease inhibitor tipranavir. *J Virol* 2006;80(21):10794-801.
217. Cavert W, Balfour HH, Jr. Detection of antiretroviral resistance in HIV-1. *Clin Lab Med* 2003;23(4):915-28.
218. Shafer RW, Schapiro JM. Drug resistance and antiretroviral drug development. *J Antimicrob Chemother* 2005;55(6):817-20.

219. Dunne AL, Mitchell FM, Coberly SK, et al. Comparison of genotyping and phenotyping methods for determining susceptibility of HIV-1 to antiretroviral drugs. *Aids* 2001;15(12):1471-5.
220. Zolopa AR. Genotype-phenotype discordance: the evolution in our understanding HIV-1 drug resistance. *Aids* 2003;17(7):1077-8.
221. Ormaasen V, Sandvik L, Asjo B, et al. An algorithm-based genotypic resistance score is associated with clinical outcome in HIV-1-infected adults on antiretroviral therapy. *HIV Med* 2004;5(6):400-6.
222. Meynard JL, Vray M, Morand-Joubert L, et al. Phenotypic or genotypic resistance testing for choosing antiretroviral therapy after treatment failure: a randomized trial. *Aids* 2002;16(5):727-36.
223. Richman DD. Benefits and limitations of testing for resistance to HIV drugs. *J Antimicrob Chemother* 2004;53(4):555-7.
224. Balduin M, Sierra S, Daumer MP, et al. Evolution of HIV resistance during treatment interruption in experienced patients and after restarting a new therapy. *J Clin Virol* 2005;34(4):277-87.
225. Lawrence J, Mayers DL, Hullsiek KH, et al. Structured treatment interruption in patients with multidrug-resistant human immunodeficiency virus. *N Engl J Med* 2003;349(9):837-46.
226. Deeks SG, Hoh R, Neilands TB, et al. Interruption of Treatment with Individual Therapeutic Drug Classes in Adults with Multidrug-Resistant HIV-1 Infection. *J Infect Dis* 2005;192(9):1537-44.
227. Turner D, Brenner B, Routy JP, et al. Diminished representation of HIV-1 variants containing select drug resistance-conferring mutations in primary HIV-1 infection. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2004;37(5):1627-31.
228. Harris M, Montaner JS. Management of HIV-infected patients with multidrug-resistant virus. *Curr HIV/AIDS Rep* 2004;1(3):116-21.
229. Deeks SG. Treatment of antiretroviral-drug-resistant HIV-1 infection. *Lancet* 2003;362(9400):2002-11.
230. De Luca A, Perno CF. Impact of different HIV resistance interpretation by distinct systems on clinical utility of resistance testing. *Curr Opin Infect Dis* 2003;16(6):573-80.
231. Brun-Vezinet F, Costagliola D, Khaled MA, et al. Clinically validated genotype analysis: guiding principles and statistical concerns. *Antivir Ther* 2004;9(4):465-78.
232. Rhee SY, Gonzales MJ, Kantor R, et al. Human immunodeficiency virus reverse transcriptase and protease sequence database. *Nucleic Acids Res* 2003;31(1):298-303.
233. Soriano V. Interpretación de genotipos de resistencia de la Red de Investigación en SIDA (RIS): Publicaciones Permanyer; 2006.
234. Hirsch MS, Brun-Vezinet F, Clotet B, et al. Antiretroviral drug resistance testing in adults infected with human immunodeficiency virus type 1: 2003 recommendations of an International AIDS Society-USA Panel. *Clin Infect Dis* 2003;37(1):113-28.
235. Vercauteren J, Vandamme AM. Algorithms for the interpretation of HIV-1 genotypic drug resistance information. *Antiviral Res* 2006;71(2-3):335-42.
236. Grant RM, Kuritzkes DR, Johnson VA, et al. Accuracy of the TRUGENE HIV-1 genotyping kit. *J Clin Microbiol* 2003;41(4):1586-93.

237. Eshleman SH, Crutcher G, Petruskane O, et al. Sensitivity and specificity of the ViroSeq human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) genotyping system for detection of HIV-1 drug resistance mutations by use of an ABI PRISM 3100 genetic analyzer. *J Clin Microbiol* 2005;43(2):813-7.
238. Perez-Elias MJ, Garcia-Arota I, Munoz V, et al. Phenotype or virtual phenotype for choosing antiretroviral therapy after failure: a prospective, randomized study. *Antivir Ther* 2003;8(6):577-84.
239. Zhang J, Rhee SY, Taylor J, et al. Comparison of the precision and sensitivity of the Antivirogram and PhenoSense HIV drug susceptibility assays. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005;38(4):439-44.
240. Saracino A, Monno L, Locaputo S, et al. Selection of antiretroviral therapy guided by genotypic or phenotypic resistance testing: an open-label, randomized, multicenter study (PhenGen). *J Acquir Immune Defic Syndr* 2004;37(5):1587-98.
241. Liu TF, Shafer RW. Web resources for HIV type 1 genotypic-resistance test interpretation. *Clin Infect Dis* 2006;42(11):1608-18.
242. Puchhammer-Stockl E, Steininger C, Geringer E, et al. Comparison of virtual phenotype and HIV-SEQ program (Stanford) interpretation for predicting drug resistance of HIV strains. *HIV Med* 2002;3(3):200-6.
243. UNIVERSITY S. HIV DRUG RESISTANCE DATABASE. Disponible en <http://hivdb.stanford.edu>. In; Last updated 12/12/06.
244. Kijak GH, Rubio AE, Pampuro SE, et al. Discrepant results in the interpretation of HIV-1 drug-resistance genotypic data among widely used algorithms. *HIV Med* 2003;4(1):72-8.
245. Ravela J, Betts BJ, Brun-Vezinet F, et al. HIV-1 protease and reverse transcriptase mutation patterns responsible for discordances between genotypic drug resistance interpretation algorithms. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2003;33(1):8-14.
246. Sturmer M, Doerr HW, Staszewski S, et al. Comparison of nine resistance interpretation systems for HIV-1 genotyping. *Antivir Ther* 2003;8(3):239-44.
247. Zazzi M, Romano L, Venturi G, et al. Comparative evaluation of three computerized algorithms for prediction of antiretroviral susceptibility from HIV type 1 genotype. *J Antimicrob Chemother* 2004;53(2):356-60.
248. De Luca A, Cozzi-Lepri A, Perno CF, et al. Variability in the interpretation of transmitted genotypic HIV-1 drug resistance and prediction of virological outcomes of the initial HAART by distinct systems. *Antivir Ther* 2004;9(5):743-52.
249. Munoz M, Carmona R, Perez-Alvarez L, et al. Analysis of discrepancies in the interpretation of antiretroviral drug resistance results in HIV-1 infected patients of Basque Country, Spain. *J Clin Virol* 2005;33(3):224-9.
250. Torti C, Quiros-Roldan E, Keulen W, et al. Comparison between rules-based human immunodeficiency virus type 1 genotype interpretations and real or virtual phenotype: concordance analysis and correlation with clinical outcome in heavily treated patients. *J Infect Dis* 2003;188(2):194-201.
251. Vandamme AM, Sonnerborg A, Ait-Khaled M, et al. Updated European recommendations for the clinical use of HIV drug resistance testing. *Antivir Ther* 2004;9(6):829-48.
252. Tural C, Ruiz L, Holtzer C, et al. Clinical utility of HIV-1 genotyping and expert advice: the Havana trial. *Aids* 2002;16(2):209-18.

253. Zeldin RK, Petruschke RA. Pharmacological and therapeutic properties of ritonavir-boosted protease inhibitor therapy in HIV-infected patients. *J Antimicrob Chemother* 2004;53(1):4-9.
254. Cvetkovic RS, Goa KL. Lopinavir/ritonavir: a review of its use in the management of HIV infection. *Drugs* 2003;63(8):769-802.
255. Kaplan SS, Hicks CB. Safety and antiviral activity of lopinavir/ritonavir-based therapy in human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) infection. *J Antimicrob Chemother* 2005;56(2):273-6.
256. Bergshoeff AS, Fraaij PL, Ndagijimana J, et al. Increased dose of lopinavir/ritonavir compensates for efavirenz-induced drug-drug interaction in HIV-1-infected children. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005;39(1):63-8.
257. Benson CA, Deeks SG, Brun SC, et al. Safety and antiviral activity at 48 weeks of lopinavir/ritonavir plus nevirapine and 2 nucleoside reverse-transcriptase inhibitors in human immunodeficiency virus type 1-infected protease inhibitor-experienced patients. *J Infect Dis* 2002;185(5):599-607.
258. Boffito M, Arnaudo I, Raiteri R, et al. Clinical use of lopinavir/ritonavir in a salvage therapy setting: pharmacokinetics and pharmacodynamics. *AIDS* 2002;16(15):2081-3.
259. Masquelier B, Breilh D, Neau D, et al. Human immunodeficiency virus type 1 genotypic and pharmacokinetic determinants of the virological response to lopinavir-ritonavir-containing therapy in protease inhibitor-experienced patients. *Antimicrob Agents Chemother* 2002;46(9):2926-32.
260. Landay A, da Silva BA, King MS, et al. Evidence of ongoing immune reconstitution in subjects with sustained viral suppression following 6 years of lopinavir-ritonavir treatment. *Clin Infect Dis* 2007;44(5):749-54.
261. Vaclavikova J, Machala L, Stankova M, et al. Response of HIV positive patients to the long-term salvage therapy by lopinavir/ritonavir. *J Clin Virol* 2005;33(4):319-23.
262. Resino S, Bellón JM, Ramos JT, et al. Positive virologic outcome after lopinavir/ritonavir salvage therapy in protease inhibitor-experienced HIV-1-infected children. A prospective cohort study. *J Antimicrob Chemother* 2004;54(5):921-931.
263. Ramos JT, De Jose MI, Duenas J, et al. Safety and Antiviral Response at 12 Months of Lopinavir/Ritonavir Therapy in Human Immunodeficiency Virus-1-Infected Children Experienced With Three Classes of Antiretrovirals. *Pediatr Infect Dis J* 2005;24(10):867-873.
264. Brunet-Francois C, Taieb A, Masquelier B, et al. [Lopinavir/ritonavir in HIV-infected patient with long-term virological failure: immunovirological response and tolerance in 121 patients of the ANRS CO8 Aproco-Copilote cohort.]. *Med Mal Infect* 2007.
265. Bongiovanni M, Chiesa E, Di Biagio A, et al. Use of lopinavir/ritonavir in HIV-infected patients failing a first-line protease-inhibitor-containing HAART. *J Antimicrob Chemother* 2005;55(6):1003-7.
266. Saez-Llorens X, Violari A, Deetz CO, et al. Forty-eight-week evaluation of lopinavir/ritonavir, a new protease inhibitor, in human immunodeficiency virus-infected children. *Pediatr Infect Dis J* 2003;22(3):216-24.
267. Resino S, Bellon JM, Munoz-Fernandez MA. Antiretroviral activity and safety of lopinavir/ritonavir in protease inhibitor-experienced HIV-infected children with severe-moderate immunodeficiency. *J Antimicrob Chemother* 2006;57(3):579-82.

268. Friend J, Parkin N, Liegler T, et al. Isolated lopinavir resistance after virological rebound of a ritonavir/lopinavir-based regimen. *Aids* 2004;18(14):1965-6.
269. Mo H, King MS, King K, et al. Selection of resistance in protease inhibitor-experienced, human immunodeficiency virus type 1-infected subjects failing lopinavir- and ritonavir-based therapy: mutation patterns and baseline correlates. *J Virol* 2005;79(6):3329-38.
270. Luis Jimenez J, Resino S, Martinez-Colom A, et al. Mutations at codons 54 and 82 of HIV protease predict virological response of HIV-infected children on salvage lopinavir/ritonavir therapy. *J Antimicrob Chemother* 2005;56(6):1081-6.
271. Monno L, Saracino A, Scudeller L, et al. HIV-1 Phenotypic Susceptibility to Lopinavir (LPV) and Genotypic Analysis in LPV/r-Naive Subjects With Prior Protease Inhibitor Experience. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2003;33(4):439-447.
272. Voigt E, Wasmuth JC, Vogel M, et al. Safety, efficacy and development of resistance under the new protease inhibitor lopinavir/ritonavir: 48-week results. *Infection* 2004;32(2):82-8.
273. Bongiovanni M, Bini T, Tordato F, et al. Immunovirological outcomes in 70 HIV-1-infected patients who switched to lopinavir/ritonavir after failing at least one protease inhibitor-containing regimen: a retrospective cohort study. *J Antimicrob Chemother* 2003;51(1):171-4.
274. Conradie F, Sanne I, Venter W, et al. Failure of lopinavir-ritonavir (Kaletra)-containing regimen in an antiretroviral-naive patient. *Aids* 2004;18(7):1084-5.
275. Kagan RM, Cheung PK, Huard TK, et al. Increasing prevalence of HIV-1 protease inhibitor-associated mutations correlates with long-term non-suppressive protease inhibitor treatment. *Antiviral Res* 2006;71(1):42-52.
276. de Mendoza C, Valer L, Bacheler L, et al. Prevalence of the HIV-1 protease mutation I47A in clinical practice and association with lopinavir resistance. *Aids* 2006;20(7):1071-4.
277. Kagan RM, Shenderovich MD, Heseltine PN, et al. Structural analysis of an HIV-1 protease I47A mutant resistant to the protease inhibitor lopinavir. *Protein Sci* 2005;14(7):1870-8.
278. Loutfy MR, Raboud JM, Walmsley SL, et al. Predictive value of HIV-1 protease genotype and virtual phenotype on the virological response to lopinavir/ritonavir-containing salvage regimens. *Antivir Ther* 2004;9(4):595-602.
279. Kempf DJ, Isaacson JD, King MS, et al. Identification of genotypic changes in human immunodeficiency virus protease that correlate with reduced susceptibility to the protease inhibitor lopinavir among viral isolates from protease inhibitor-experienced patients. *J Virol* 2001;75(16):7462-9.
280. Parkin NT, Chappey C, Petropoulos CJ. Improving lopinavir genotype algorithm through phenotype correlations: novel mutation patterns and amprenavir cross-resistance. *Aids* 2003;17(7):955-61.
281. Maillard A, Chapplain JM, Tribut O, et al. The use of drug resistance algorithms and genotypic inhibitory quotient in prediction of lopinavir-ritonavir treatment response in human immunodeficiency virus type 1 protease inhibitor-experienced patients. *J Clin Virol* 2007;38(2):131-8.

282. Breilh D, Pellegrin I, Rouzes A, et al. Virological, intracellular and plasma pharmacological parameters predicting response to lopinavir/ritonavir (KALEPHAR study). *Aids* 2004;18(9):1305-10.
283. Marcelin AG, Lamotte C, Delaugerre C, et al. Genotypic inhibitory quotient as predictor of virological response to ritonavir-amprenavir in human immunodeficiency virus type 1 protease inhibitor-experienced patients. *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47(2):594-600.
284. Gonzalez de Requena D, Gallego O, Valer L, et al. Prediction of virological response to lopinavir/ritonavir using the genotypic inhibitory quotient. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2004;20(3):275-8.
285. Resino S, Correa R, Segovia P, et al. Identificación de mujeres embarazadas infectadas por el VIH-1: Significado de pruebas serológicas indeterminadas. *Progresos en Obstetricia y Ginecología* 2000;43:53-60.
286. Albert J, Fenyo EM. Simple, sensitive, and specific detection of human immunodeficiency virus type 1 in clinical specimens by polymerase chain reaction with nested primers. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1990;6(7):847-53.
287. Hirsch MS, Brun-Vezinet F, D'Aquila RT, et al. Antiretroviral drug resistance testing in adult HIV-1 infection: recommendations of an International AIDS Society-USA Panel. *Jama* 2000;283(18):2417-26.
288. Pediatric European Network for treatment of AIDS (PENTA). HIV-1 viral load and CD4 cell count in untreated children with vertically acquired asymptomatic or mild disease. *AIDS* 1998;12:F1-F8.
289. Resino S, Navarro J, Bellón JM, et al. Naïve and memory CD4+ T-cells and T-cell activation markers in HIV-1 infected children on HAART. *Clin Exp Immunol* 2001;125:266-273.
290. Navarro J, Resino S, Bellón JM, et al. Association of CD8+ T lymphocyte subsets with the most commonly used markers to monitor HIV-1 infection in children treated with highly active antiretroviral therapy. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2001;17(6):525-532.
291. Armitage P, Berry G. Comparación de varios grupos. In: Doyma, editor. *Estadística para la investigación Biomédica*. Barcelona; 1992. p. 217-249.
292. Armitage P, Berry G. Análisis de Supervivencia. In: Doyma, editor. *Estadística para la investigación Biomédica*. Barcelona; 1992. p. 493-515.
293. Armitage P, Berry G. Métodos no paramétricos. In: Doyma, editor. *Estadística para la investigación Biomédica*. Barcelona; 1992. p. 477-492.
294. Alvarez R. Estadística no paramétrica. El procedimiento Npar. In: Santos Dd, editor. *Estadística multivariante y no paramétrica con SPSS*. Madrid; 1995. p. 305-382.
295. Resino S, Resino R, Micheloud D, et al. Long-term effects of highly active antiretroviral therapy in pretreated, vertically HIV type 1-infected children: 6 years of follow-up. *Clin Infect Dis* 2006;42(6):862-9.
296. Sacristan JA, Soto J, Galende I. Critical evaluation of clinical trials. *Med Clin (Barc)* 1993;100(20):780-7.
297. Tarwater PM, Mellors J, Gore ME, et al. Methods to assess population effectiveness of therapies in human immunodeficiency virus incident and prevalent cohorts. *Am J Epidemiol* 2001;154(7):675-81.

298. Kline MW, Van Dyke RB, Lindsey JC, et al. A randomized comparative trial of stavudine (d4T) versus zidovudine (ZDV, AZT) in children with human immunodeficiency virus infection. AIDS Clinical Trials Group 240 Team. *Pediatr Pulmonol* 1997;24(6):406-14.
299. Soh CH, Oleske JM, Brady MT, et al. Long-term effects of protease-inhibitor-based combination therapy on CD4 T-cell recovery in HIV-1-infected children and adolescents. *Lancet* 2003;362(9401):2045-51.
300. Sharland M, di Zub GC, Ramos JT, et al. PENTA guidelines for the use of antiretroviral therapy in paediatric HIV infection. Pediatric European Network for Treatment of AIDS. *HIV Med* 2002;3(3):215-26.
301. Giorgi JV, Liu Z, Hultin LE, et al. Elevated levels of CD38+ CD8+ T cells in HIV infection add to the prognostic value of low CD4+ T cell levels: results of 6 years of follow-up. The Los Angeles Center, Multicenter AIDS Cohort Study. *Cell Immunol* 1993;150(1):72-80.
302. Guillen S, Ramos JT, Resino R, et al. Impact on Weight and Height With the Use of HAART in HIV-Infected Children. *Pediatr Infect Dis J* 2007;26(4):334-338.
303. Perelson AS, Essunger P, Cao Y, et al. Decay characteristics of HIV-1-infected compartments during combination therapy. *Nature* 1997;387(6629):188-91.
304. Luzuriaga K, Wu H, McManus M, et al. Dynamics of human immunodeficiency virus type 1 replication in vertically infected infants. *J Virol* 1999;73(1):362-7.
305. Walker AS, Doerholt K, Sharland M, et al. Response to highly active antiretroviral therapy varies with age: the UK and Ireland Collaborative HIV Paediatric Study. *Aids* 2004;18(14):1915-24.
306. Hicks C, King MS, Gulick RM, et al. Long-term safety and durable antiretroviral activity of lopinavir/ritonavir in treatment-naïve patients: 4 year follow-up study. *Aids* 2004;18(5):775-9.
307. Battegay M, Nuesch R, Hirschel B, et al. Immunological recovery and antiretroviral therapy in HIV-1 infection. *Lancet Infect Dis* 2006;6(5):280-7.
308. Kaufmann GR, Furrer H, Ledergerber B, et al. Characteristics, determinants, and clinical relevance of CD4 T cell recovery to <500 cells/microL in HIV type 1-infected individuals receiving potent antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis* 2005;41(3):361-72.
309. Zaccarelli-Filho CA, Ono E, Machado DM, et al. HIV-1-infected children on HAART: immunologic features of three different levels of viral suppression. *Cytometry B Clin Cytom* 2007;72(1):14-21.
310. Resino S, Galan I, Perez A, et al. Immunological changes after highly active antiretroviral therapy with lopinavir-ritonavir in heavily pretreated HIV-infected children. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2005;21(5):398-406.
311. Deeks SG. Durable HIV treatment benefit despite low-level viremia: reassessing definitions of success or failure. *Jama* 2001;286(2):224-6.
312. Ledergerber B, Lundgren JD, Walker AS, et al. Predictors of trend in CD4-positive T-cell count and mortality among HIV-1-infected individuals with virological failure to all three antiretroviral-drug classes. *Lancet* 2004;364(9428):51-62.
313. England K, Thorne C, Newell ML. Vertically acquired paediatric coinfection with HIV and hepatitis C virus. *Lancet Infect Dis* 2006;6(2):83-90.
314. Carlos Martin J, Castilla J, Lopez M, et al. Impact of chronic hepatitis C on HIV-1 disease progression. *HIV Clin Trials* 2004;5(3):125-31.

315. Nigro G, D'Orio F, Catania S, et al. Mother to infant transmission of coinfection by human immunodeficiency virus and hepatitis C virus: prevalence and clinical manifestations. *Arch Virol* 1997;142(3):453-7.
316. Papaevangelou V, Pollack H, Rochford G, et al. Increased transmission of vertical hepatitis C virus (HCV) infection to human immunodeficiency virus (HIV)-infected infants of HIV- and HCV-coinfected women. *J Infect Dis* 1998;178(4):1047-52.
317. Rockstroh JK, Spengler U. HIV and hepatitis C virus co-infection. *Lancet Infect Dis* 2004;4(7):437-44.
318. Three broad modalities in the natural history of vertically acquired hepatitis C virus infection. *Clin Infect Dis* 2005;41(1):45-51.
319. Bedimo R, Ghurani R, Nsuami M, et al. Lipid abnormalities in HIV/hepatitis C virus-coinfected patients. *HIV Med* 2006;7(8):530-6.
320. Bonfanti P, Martinelli C, Ricci E, et al. An Italian approach to postmarketing monitoring: preliminary results from the SCOLTA (Surveillance Cohort Long-Term Toxicity Antiretrovirals) project on the safety of lopinavir/ritonavir. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005;39(3):317-20.
321. Bongiovanni M, Cicconi P, Landonio S, et al. Predictive factors of lopinavir/ritonavir discontinuation for drug-related toxicity: results from a cohort of 416 multi-experienced HIV-infected individuals. *Int J Antimicrob Agents* 2005;26(1):88-91.
322. Johnson SR, Marion AA, Vrchoticky T, et al. Cushing syndrome with secondary adrenal insufficiency from concomitant therapy with ritonavir and fluticasone. *J Pediatr* 2006;148(3):386-8.
323. Chaix ML, Rouet F, Kouakoussui KA, et al. Genotypic human immunodeficiency virus type 1 drug resistance in highly active antiretroviral therapy-treated children in Abidjan, Cote d'Ivoire. *Pediatr Infect Dis J* 2005;24(12):1072-6.
324. Puig T, Perez-Olmeda M, Rubio A, et al. Prevalence of genotypic resistance to nucleoside analogues and protease inhibitors in Spain. The ERASE-2 Study Group [In Process Citation]. *AIDS* 2000;14(6):727-32.
325. Gallego O, Ruiz L, Vallejo A, et al. Changes in the rate of genotypic resistance to antiretroviral drugs in Spain. *Aids* 2001;15(14):1894-6.
326. Delaugerre C, Chaix ML, Warszawski J, et al. [HIV-1 drug resistance in French infected-children: from newborn to adolescent]. *Arch Pediatr* 2007;14(3):298-302.
327. Bennett DE. The requirement for surveillance of HIV drug resistance within antiretroviral rollout in the developing world. *Curr Opin Infect Dis* 2006;19(6):607-14.
328. Jimenez JL, Resino S, Martinez-Colom A, et al. Mutations at codons 54 and 82 of HIV protease predict virological response of HIV-infected children on salvage lopinavir/ritonavir therapy. *J Antimicrob Chemother* 2005;(doi:10.1093/jac/dki356):In press.
329. Arribas JR, Pulido F, Delgado R, et al. Lopinavir/ritonavir as single-drug therapy for maintenance of HIV-1 viral suppression: 48-week results of a randomized, controlled, open-label, proof-of-concept pilot clinical trial (OK Study). *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005;40(3):280-7.

8. *ARTÍCULOS PUBLICADOS*

8.1. LISTA DE ARTÍCULOS OBTENIDOS COMO RESULTADO DE LA REALIZACIÓN DE ESTA MEMORIA.

1. **Larrú B**, de Mendoza C, Bellón JM^a, de José M^aI, Mellado M^aJ, Soriano V, Muñoz-Fernández M^aA and Ramos JT. Predictive factors of virological success to salvage regimens containing protease inhibitors in HIV-1 infected children. **BMC Infectious Diseases** 2007. En prensa.
2. **Larrú B**, de José M^aI, Bellón JM^a, Gurbindo M^a D, Leon JA, Ciria L, Ramos JT, Mellado M^aJ, Pocheville I, Jiménez JL y Muñoz-Fernández M^aA. Prevalencia de resistencia a fármacos antirretrovirales en España. **Anales de Pediatría** 2007. Enviado.
3. **Larrú B**, Resino S, Bellón JM^a, de José M^aI, Fortuny C, Gurbindo M^aD, Soler P y Muñoz-Fernández M^aA. Evolución en niños coinfectados por VIH y VHC con tratamiento prolongado con Lopinavir/Ritonavir. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica** 2007. Enviado.
4. **Larrú B**, Resino S, Bellón JM^a, de José M^aI, Fortuny C, Navarro M^aL, Gurbindo M^aD, Ramos JT, Soler P, León JA, Asensi M, Mellado M^aJ and Muñoz-Fernández M^aA. Long-term response to highly active antiretroviral therapy with lopinavir-ritonavir in pretreated vertically HIV-infected children. **Clinical Infectious Diseases** 2007. Enviado.